Urologische Universitätsklinik
der Ruhr-Universität Bochum
Marienhospital Herne
Lehrstuhl für Urologie (Direktor: Prof. Dr. Th. Senge)

Lichtmikroskopisch-morphometrische Untersuchungen auf der Grundlage stereologischer Prinzipien am Modell der Hundeprostata

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur
Erlangung des Doktorgrades der Medizin
einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der Ruhr-Universität zu Bochum

vorgelegt von
Bernd Schüring
aus Hagen

1981

1982

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547222_0011

Urologische Universitätsklinik

der Ruhr-Universität Bochum

Marienhospital Herne

Lehrstuhl für Urologie (Direktor: Prof. Dr. Th. Senge)

Lichtmikroskopisch-morphometrische Untersuchungen auf der Grundlage stereologischer Prinzipien am Modell der Hundeprostata

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung des Doktorgrades der Medizin

einer

Hohen Medizinischen Fakultät

der Ruhr-Universität zu Bochum

vorgelegt von

Bernd Schüring

aus Hagen

1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Prof. Dr. med. Karl-Heinz Morgenroth

Referent: Prof. Dr. med. Theodor Senge

Korreferent: Priv. Doz. Dr. med. Wolfgang Wierich

Tag der mündlichen Prüfung: 26. Oktober 1982

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1. Einleitung 1

2. Untersuchungen zur stereologischen Methodik 2
2.1. Geschichtliche Aspekte zur quantitativen Bildauswertung 2
2.2. Begriffliche Abgrenzungen 5
2.3. Mathematische Grundlagen 7
2.3.1. Axiom von DELESSE 7
2.3.2. Axiom von GLAGOLEFF 8
2.3.3. Axiom von ROSIVAL 9
2.3.4. Axiom von TOMKEIEFF und SALTYKOV 10
2.4. Vorschläge zur Konstruktion eines Testsystems 12
2.4.1. Vorbemerkung 12
2.4.2. Testsysteme zur Ermittlung von Punkt-, Längen- und Flächendichte 13
2.4.3. Weitere Testsysteme 14
2.4.4. Multipurpose-Testsystem 16
2.4.5. Wahl von Testsystem und mikroskopischer Vergrößerung 18
2.5. Stereologische Berechnungen 19
2.5.1. Stichprobennahme (Sampling) 19
2.5.2. Verfahren bei inhomogen strukturierten Organen 23
2.5.3. Bestimmung des Stichprobenumfangs 24
2.6. Probleme bei der Bestimmung von absoluten und relativen Dichten in der Morphometrie 25
2.6.1. Größenveränderung durch Fixierung, Färbung und andere Einflüsse 25
2.6.2. Korrekturfaktoren für Schrumpfungsprozesse 27
2.6.3. Bestimmung von Gewicht, Volumen, spezifischem Gewicht und Oberfläche 28
2.6.4. Schnittdicke und HOLMES-Effekt 29
2.7. Basissymbole der Stereologie 30
2.8. Stereologische Kaskade 32

Seite

3. Stereologische Ergebnisse am lichtmikroskopischen Modell der Hundeprostata 35
3.1. Zielsetzung, Methode und Material 35
3.2. Herstellung der auszuwertenden histologischen Schnittpräparate 37
3.3. Lichtmikroskopisches Morphometriemodell der Hundeprostata 38
3.4. Auswertungsstufe I, dargestellt am Beispiel der Gruppe I 39
3.4.1. Verfahrensweise 39
3.4.2. Kompartimente und Berechnungen 40
3.4.3. Statistische Basiswerte 42
3.5. Auswertungsstufe II, dargestellt am Beispiel der Gruppe I 43
3.5.1. Verfahrensweise 43
3.5.2. Kompartimente und Berechnungen 44
3.5.3. Statistische Basiswerte 46
3.6. Verknüpfung der Auswertungsstufen I und II unter Berücksichtigung von Korrekturfaktoren, dargestellt am Beispiel der Gruppe I 47
3.6.1. Ermittlung absoluter und relativer Volumina mit Hilfe des spezifischen Gewichts 47
3.6.2. Stereologische Kaskade 49
3.7. Berechnung der Oberflächendichte 50
3.8. Mathematisches Modell zur Berechnung von Radius und Länge eines Drüsensystems 51
3.9. Zusammenfassung der Ergebnisse der Gruppe I 52
3.10. Besonderheiten bei der Auswertung der Gruppen II bis V 54
3.11. Tabellarisierte Ergebnisse aus den Gruppen I bis V ..55
3.12. Statistik 61
3.13. Gruppenvergleich im Hinblick auf die verschiedenen Parameter unter Berücksichtigung der Signifikanz 62
3.13.1. Gewichte der Prostatae 62
3.13.2. Volumendichten 64
3.13.3. Absolute Volumina 66

Seite

3.13.4. Oberfläche, Länge und Durchmesser des Drüsensystems 69
3.13.4.1. Oberfläche 69
3.13.4.2. Länge 71
3.13.4.3. Durchmesser 72
3.13.5. Übersicht über die ein-, zwei- und dreidimensionalen Parameter der Hundeprostata 73
3.14. Zusammenfassendes Flußdiagramm des Versuchsablaufs und seiner Auswertung 75

4. Diskussion 77
4.1. Pathogenese der benignen Prostatahyperplasie und Erstellung eines tierexperimentellen Modells 77
4.2. Vergleich zwischen den Prostatae von Menschen, Hunden und Ratten 79
4.3. Vergleich der BPH-Modelle nach Induktion mit Androgenen und Östrogenen 82
4.4. Auswirkungen des Antiandrogens Cyproteronacetat (CPA) auf die in den BPH-Modellen beschriebenen Volumendichten und Daten des Tubulussystems 85
4.5. Schlußbemerkung und Ausblick 93

5. Zusammenfassung 94

Anhang 96

Literaturverzeichnis 118

1. Einleitung

Für das Verständnis physiologischer und pathophysiologischer Zusammenhänge ist die exakte Ermittlung der morphologischen Zusammensetzung eines Organs erforderlich. Als grundlegendes Problem erweist sich die differenzierte Erfassung von Hormoneinflüssen auf einzelne Organkompartimente. Hierfür stellen sich mathematische Auswertverfahren als hilfreich heraus, während biochemische Untersuchungsmethoden am Gesamtorgan unter morphologischen Aspekten oft unzureichend sind.

Die Quantifizierung morphologischer Befunde erlaubt

- eine Objektivierung qualitativer Befunde,
- eine genaue Erfassung von Physiologie und Pathologie gesunder und kranker Organe,
- einen Vergleich klinischer und morphologischer Befunde,
- eine Korrelierung biochemischer Resultate mit morphologischen Ergebnissen (vgl. ROHR 1978).

Daher beruhen zahlreiche wissenschaftliche Arbeiten (HAUG 1962, ROHR 1978, HOPPELER/LÜTHI 1973, BARTSCH 1977 u.a.) auf morphometrischer Datenermittlung.

Allerdings fehlt eine systematische Anleitung zur Anwendung der Morphometrie, so daß die Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit von auf dieser Basis erstellten Ergebnissen bislang noch nicht gewährleistet sind. Die vorliegende Arbeit beschreibt die Erstellung einer derartigen reproduzierbaren stereologischen Methodik und unterzieht ihre Anwendbarkeit im Bereich der spezifischen Organanalyse einer kritischen Würdigung. Unter Berücksichtigung dieser Aspekte werden anschließend die quantitative Morphologie (Morphometrie) und das hierzu erforderliche mathematische Formelpaket (Stereologie) am lichtmikroskopischen Morphometriemodell der Hundeprostata überprüft und diskutiert.

2. Untersuchungen zur stereologischen Methodik

2.1. Geschichtliche Aspekte zur quantitativen Bildauswertung

Die quantitative Untersuchung mikroskopischer Objekte ist fast ebensolange bekannt wie die mikroskopische Beobachtung selbst. Um 1900 stellten AMELUNG, BETKE und KÖLLIKER erste vergleichende Untersuchungen über Zellgrößen an. HERTWIG führte 1903 den Begriff "Kern-Plasma-Relation" ein. In demselben Jahr weist GLASER darauf hin, daß die Maßeinheit beim Ausmessen des Kubikinhaltes eines Körpers "sehr klein oder auch unendlich klein zu nehmen" sei (GLASER 1903, S.90). Zwischen den beiden Weltkriegen stand die auch heute noch angewendete Kernvolumetrie im Vordergrund (HAUG 1955). 1943 benutzte CHALKLEY erstmals ein Integrationsverfahren zur direkten relativen Volumenerfassung mehrerer Kompartimente an mikroskopischen Schnitten. HAUG prägte hierfür 1955 den Begriff "Treffermethode" (HAUG 1955).

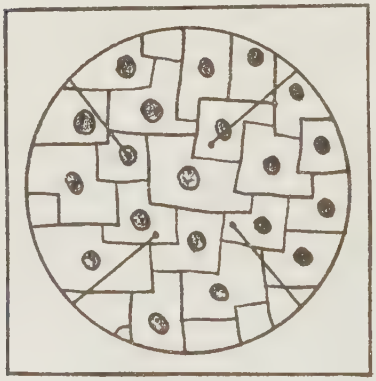


Abb. 1: CHALKLEY'sche Methode: CHALKLEY befestigte mehrere Haare im Okular und zählte die "hits" auf Kerne und Plasma.
(Vereinfachte Abb. nach J.Natn. Cancer Inst. 4, 1943, S. 48)

Zur Verbesserung der CHALKLEY'schen Originalmethode, mit der man nur 4 Testpunkte pro Gesichtsfeld erfassen konnte, führte HAUG 1954 die Auswertung mit Hilfe eines Testgitters ein. Das zugehörige Zählokular enthielt ein Quadrat mit einem Gitter aus 100 quadratischen Feldern. HAUG erhöhte damit die Anzahl der Testpunkte, wodurch er

eine größere Genauigkeit erzielte (HAUG 1955). Die Treffer pro Struktur wurden bis 1968 CHALKLEY-Einheiten genannt (SCHARF 1968).

Das von HENNING 1956 erstellte Linienverfahren diente der Berechnung der inneren und äußeren Oberfläche eines Organs. Dazu erforderte diese Methode noch die Schnittdicke (HENNING 1963).

Wie HAUG später zeigte, besteht eine Möglichkeit zur Bestimmung von relativen Volumenanteilen mikroskopischer Schnitte darin, projizierte mikroskopische Bilder auf Karton zu zeichnen, die Flächen auszuschneiden und ihre relative Größe bzw. ihr Volumen durch Wägung zu erfassen (HAUG 1962). Diese Methode wird heute durch die Planimetrie ersetzt, mit deren Hilfe man sowohl die relativen Volumenanteile als auch die Oberfläche berechnen kann. Allerdings liefert dieses Integrationsverfahren weder Zahlen über die Häufigkeit von Struktureinzelteilen noch ein lineares Maß.

Gegenwärtig konzentrieren sich die Methoden zur Bestimmung von Organvolumina und -oberflächen auf die Zählverfahren (Treffermethode, Punktzählverfahren), die WEIBEL durch die Einführung verschiedener Testsysteme wesentlich erleichtert und rationalisiert hat (WEIBEL 1973, ROHR 1976). Das Anwendungsgebiet wurde 1962 von der Lichtmikroskopie auf die Elektronenmikroskopie ausgeweitet (LOUD 1962 in WEIBEL 1969, Stereological Principles for Morphometry in Electron-Cytology).

Eine Hilfswissenschaft der Morphometrie ist die Stereologie (ROHR u.a. 1976), die die mathematischen Grundlagen für die notwendigen Berechnungen liefert. Bereits 1862 forderte WELCKER die Mathematisierung der Morphologie mit den Methoden der deskriptiven Statistik (WELCKER in: SCHARF 1968). Die 1961 gegründete Internationale Gesellschaft für Stereologie ist bemüht, ein Einheitssystem der Nomenklatur für Basissymbole aufzustellen, um die Anwendung und die Kommunikation in den verschiedenen Wissenschaftsbereichen, insbesondere der Werkstoffkunde, der Biologie und der Medizin, zu erleichtern (ELIAS 1971, UNDERWOOD 1974, ROHR 1976).

In diesen und allen anderen naturwissenschaftlichen Disziplinen, vor allem auch in denen der Geologie und Metallurgie, werden heute die Methoden der Morphometrie und Stereologie angewendet (EXNER 1975).

Da die modernen statistischen Verfahrensweisen eng mit den stereologischen Aufgabenstellungen korrelieren, wird aufgrund des großen Datenflusses eine zeitsparende, vollwertige Analyse gerade in diesen Bereichen erst über die Computertechnik möglich. In der Stereologie setzt man hierfür automatisierte, teilweise über Computerprogramme gesteuerte Bildanalysatoren ein (J. GAHM in : EXNER 1975).

Automatisierte Geräte erlauben allerdings nur die Analyse von relativ einfachen Partikelformen oder Strukturen, die auf dem Bildschirm manuell zur Auswertung vorzubereiten sind. Hierfür wird eine Struktur mit ihren Kompartimenten in entsprechende Grauwerte zerlegt und mit einem Scanningverfahren ausgewertet. Gerade in elektronenmikroskopischen Bereichen stellt sich dabei heraus, daß unterschiedliche Kompartimente die gleichen Grauabstufungen besitzen. Hier zeigt das System Auge-Gehirn des Menschen eine deutliche Überlegenheit gegenüber bisherigen automatisierten Verfahren. Ein weiteres Beispiel für die Grenzen der Auswertung mit automatischen Geräten stellt die Erfassung eines in der Ebene angeschnittenen Dendriten als eine auszuzählende Einheit dar, was aufgrund der im Gehirn gespeicherten Erfahrungswerte mit dem Auge ohne weiteres schnell und einfach möglich ist.

Daher bieten sich bei biologischen Strukturen optomanuelle Systeme an, die zur Diagnostik der Strukturen das menschliche Auge benötigen, während die erarbeiteten Zahlenwerte in ein Rechensystem eingegeben werden. Auf dem Gebiet der automatischen und semiautomatischen Auswertungsverfahren in Kombination mit angeschlossenen Rechnern und Druckern sind allerdings noch Neuentwicklungen zu erwarten.

2.2. Begriffliche Abgrenzungen

Nach GUGGENHEIM verstehen wir unter Morphometrie eine "auf den Grundsätzen der geometrischen Wahrscheinlichkeit beruhende Untersuchungsmethode", die in beliebigen Wissenschaftsbereichen unter Zuhilfenahme von Prinzipien der Stereologie der Quantifizierung von Strukturverteilungen dient (GUGGENHEIM 1975, S. 301). Somit können auch Gewebs- und Zellstrukturen auf morphometrischer Basis quantitativ erfaßt werden. Im Vordergrund der Betrachtung stehen die Bestimmung relativer Volumina und Oberflächen sowie die Berechnung der Anzahl von Strukturen in einem bestimmten Bezugsvolumen (ROHR 1978).

Mit Stereologie meinen wir die Lehre von den mathematischen Beziehungen, die zwischen Form und Verteilung beliebiger Strukturen im Raum bestehen. Sie ermöglicht die Berechnung der dreidimensionalen Form einer Struktur durch Extrapolation von Meßergebnissen an zweidimensionalen Schnitten dieser Struktur und umgekehrt (WEIBEL 1974, ROHR 1978). Verallgemeinert läßt sich der Sachverhalt wie folgt ausdrücken: Ein Schnitt durch ein n-dimensionales Objekt ergibt in der Ebene eine (n-1)dimensionale Abbildung (GUTJAHR 1970). Durch einfachste Zählungen an (n-1)dimensionalen histologischen Schnitten lassen sich auf diese Weise Aussagen über die Strukturen im n-dimensionalen Raum gewinnen. Auf die Beschränkung auf Schnittstichproben räumlicher Strukturen bei der Anwendung der Stereologie weist GICER hin (GICER 1971).

Die Abgrenzung der Morphometrie von der Stereologie beschreibt die Internationale Gesellschaft für Stereologie so: "Die Morphometrie ist auf die Extraktion quantitativer Daten von Projektionen oder Schnitten eines Materials begrenzt, wohingegen die Stereologie den Gesamtprozeß umfaßt, einschließlich der mathematischen Rekonstruktion der durchschnittlichen Proportion des Ausgangsmaterials in Ausdrücken des dreidimensionalen Raumes "(WEIBEL/ELIAS in: REITH/BARNARD/ROHR: Critical Review of Toxicology, 1976, S.220, Übersetzung vom Verfasser).

Zusammenfassend halten wir mit EXNER fest, daß die konsequente Anwendung morphometrischer und stereologischer Verfahren im Hinblick

auf die große Zahl mikroskopischer Arbeiten in Wissenschaft und Industrie sowie den stetig steigenden Bedarf an Genauigkeit und Aussagefähigkeit von maßgeblicher Bedeutung ist (EXNER 1975).

2.3. Mathematische Grundlagen

2.3.1. Axiom von DELESSE

1847 stellte der französische Geologe DELESSE in seiner klassischen Schrift " Procédé mécanique pour déterminer la composition des roches" fest, daß der Volumenanteil V_i einer Struktur i an einem Einheitswürfel mit dem Volumen V_T dem Anteil der Anschnittsfläche A_i der Struktur i an der Einheitsfläche A_T größenmäßig entspricht (DELESSE 1947, WEIBEL 1973, OBERHOLZER/DAIQUEN/ROHR 1976).

$$\frac{V_i}{V_T} = V_{Vi} = \frac{A_i}{A_T} = A_{Ai} \qquad (1)$$

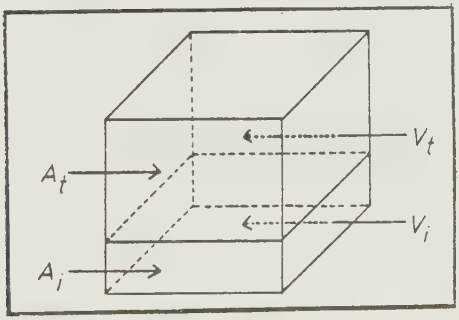


Abb. 2: Einheitswürfel nach DELESSE zur Erläuterung der Beziehung zwischen Fläche und Volumen

2.3.2. Axiom von GLAGOLEFF

Bedeckt man die Einheitsfläche (= Testfläche A_T) mit einem regelmäßigen Punktraster, so entspricht nach GLAGOLEFF die Punktverteilung über der Anschnittsfläche A_i dem Volumenanteil der Struktur i.

$$\frac{V_i}{V_T} = V_{Vi} = \frac{P_i}{P_T} = P_{Pi} \qquad (2)$$

Das Axiom von GLAGOLEFF besagt also, daß die Volumendichte V_V gleich der Punktdichte P_P ist (GLAGOLEFF 1933). Auf dieser Grundlage beruht das Punktzählverfahren.

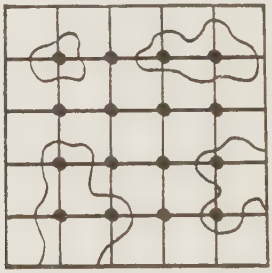


Abb. 3: Darstellung des Punktzählverfahrens

2.3.3. Axiom von ROSIVAL

Einen anderen Weg zur Bestimmung der Volumendichte beschritt ROSIVAL 1898. Sein Ergebnis lautet sinngemäß: Die Volumendichte einer Struktur i ist gleich der Summe der Streckenanteile äquidistanter Testlinien, die als Sehnen die Strukturanschnitte L_i durchziehen, bezogen auf die Gesamtlänge aller Testlinien L_T (vgl. ROHR 1978 / ROSIVAL 1898).

$$V_{Vi} = \frac{L_i}{L_T} \qquad (3)$$

Dieses Axiom liegt dem Linienzählverfahren zugrunde.

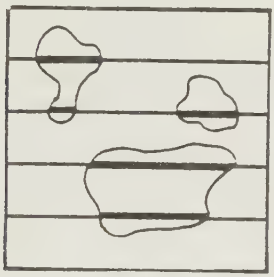


Abb. 4: Bestimmung der Volumendichte mit dem Linienzählverfahren

2.3.4. Axiom von TOMKEIEFF und SALTYKOV

1945 ermittelten TOMKEIEFF und SALTYKOV unabhängig voneinander, daß die Länge der Begrenzungslinien der Strukturanschnittsflächen in einem mikroskopischen Schnitt proportional zur Oberfläche der eingebetteten Objekte ist und daß diese Oberfläche S_{Vi} durch Zählen der Durchstoßpunkte I_i äquidistanter Testlinien mit der totalen Länge L_T eines Gitters durch die Begrenzungslinien der Strukturanschnittsflächen zu erfassen ist (TOMKEIEFF 1945, WEIBEL 1973, ROHR 1978).

$$S_{Vi} = \frac{2 \cdot I_i}{L_T} = 2 \cdot I_L \qquad (4)$$

Eine Ableitung dieser Formel finden wir bei WEIBEL (1973).
Bei der Anwendung der Formeln (1) bis (4) ist die Abhängigkeit der effektiven Länge der Testlinien von der Vergrößerung und der Wahl des Bezugsvolumens zu beachten.

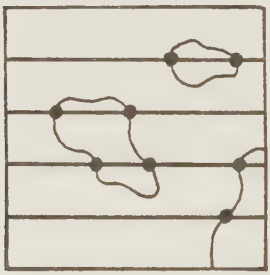


Abb. 5: Ermittlung der Oberflächendichte S_V einer Struktur i

Strukturen jeglicher Form, die keine Vorzugsrichtung in der Ebene aufweisen, also anisotrop sind, dürfen mit allen in Abschnitt 2.3. beschriebenen Verfahren ausgewertet werden (WEIBEL 1973). Für die Erfassung isotroper Strukturen dagegen bedarf es anderer Testsysteme (vgl. Abschnitt 2.4.), da die Anzahl der Durchstoßpunkte von der

Vorzugsrichtung der Strukturen sowie der Testlinienorientierung abhängig ist.

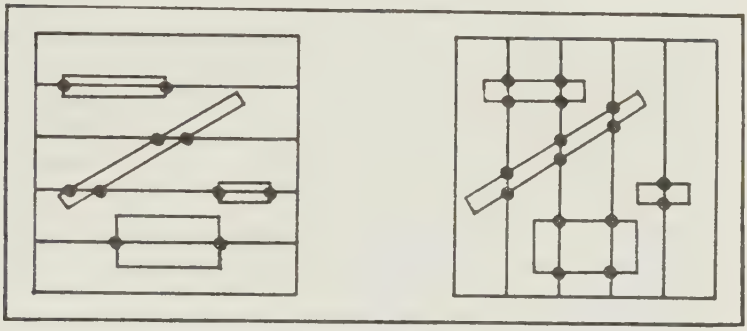


Abb. 6 a

Abb. 6 b

Abb. 6: Abhängigkeit der Anzahl der Durchstoßpunkte von der Vorzugsrichtung der Strukturen und der Testlinienorientierung:

a) 10 Durchstoßpunkte bei gleicher Anordnung von Vorzugsrichtung der Strukturen und Testlinien

b) 16 Durchstoßpunkte bei rechtwinkliger Anordnung der Testlinien zur Vorzugsrichtung der Strukturen

2.4. Vorschläge zur Konstruktion eines Testsystems

2.4.1. Vorbemerkung

Für die nachfolgend beschriebenen Testsysteme sind die Begriffe "Testgitter" und "Testraster" von Bedeutung. Verschiedene Autoren (FISCHMEISTER 1967, HALLY 1964, ELIAS/HENNING/SCHWARTZ 1971) verwenden diese Begriffe synonym. Da ein solcher Gebrauch zu Verwirrungen hinsichtlich des Sachverständnisses führen kann, unterscheiden wir Testgitter und Testraster folgendermaßen:

Testgitter definieren wir als Testsysteme mit sich kreuzenden, durchgehenden Testlinien. Alle anderen Testsysteme bezeichnen wir als Testraster.

2.4.2. Testsysteme zur Ermittlung von Punkt-, Längen- und Flächendichte

Aus Gründen der Ökonomie und Praktikabilität erheben wir mit WEIBEL an ein Testsystem die Anforderung, daß es unter Verwendung des Punktzählverfahrens dazu dient, die Flächen- (A_A), Volumen- (V_V), Oberflächen- (L_V) und Partikeldichte (N_V) in verschiedenen Vergrößerungen zu ermitteln. Längen- und Partikeldichte spielen im Gegensatz zur Metallurgie und Werkstoffkunde in der Biologie und Medizin eine untergeordnete Rolle. Für Testsysteme der beschriebenen Art prägte WEIBEL den Ausdruck "kohärente Testsysteme" (WEIBEL 1973).

Eine Möglichkeit, die Punkt-, Flächen-, Volumen- und Längendichte zu erfassen, stellt ein einfaches quadratisches Testgitter dar, in dem jedem Kreuzungspunkt ein Flächenwert a^2 zugeordnet ist (WEIBEL 1973).

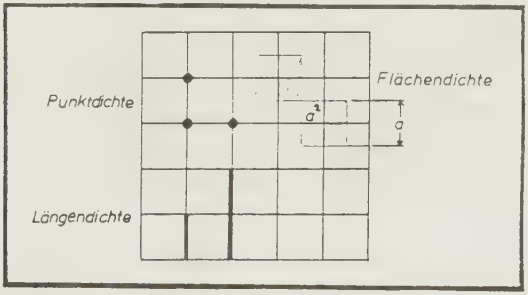


Abb. 7: Einfaches quadratisches Testgitter nach WEIBEL (1973)

2.4.3. Weitere Testsysteme

In Gewebsabschnitten treten größere und kleinere Strukturen häufig gemeinsam auf. Die unterschiedliche optimale Punktdichte zur Auswertung beider Strukturanteile verlangt eine Variation des Testsystems, die WEIBEL mit der Entwicklung des kohärenten Doppelquadrattestgitters erreicht (WEIBEL 1969).

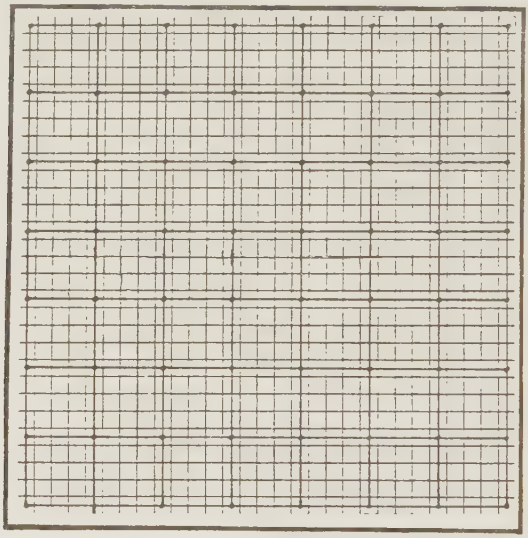


Abb. 8: Kohärentes Doppelquadrattestgitter nach WEIBEL (1973)

Da die mit dem kleinen Gitter bestimmten Volumendichten ein 16faches der mit dem großen Gitter ermittelten Dichten betragen, erfolgt eine Korrektur des ersteren Wertes mit Hilfe des Faktors 0,0625, um die Kohärenz zu gewährleisten (OBERHOLZER/DALQUEN/ROHR 1978).
(1 : 64 = x : 1024 x = 1/16 = 0,0625)
Weisen Strukturen eine Vorzugsrichtung im Raum oder eine periodische Anordnung auf, sind sie also isotrop, was Interferenzen von Strukturen und Gittern zur Folge hat (HALLY 1964, REIMER 1967, ELIAS/HENNING/SCHWARTZ 1971), ist ein randomisiertes Testraster anzuwenden (WEIBEL 1969).

Derartige Strukturen finden wir vor allem in der Mineralogie (z.B. bei Kristallstrukturen). In der Biologie treffen wir sie nur in wenigen Bereichen an, z.B. bei mit Hilfe der Elektronenmikroskopie dargestellten Viruspartikeln,im Skelettmuskel oder bei peripheren Nerven.

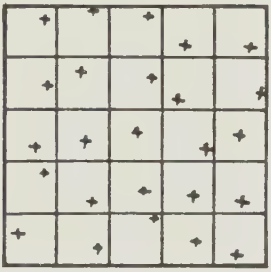


Abb. 9: Testgitter mit 25 randomisierten Testpunkten, die auch durch randomisierte Linien ersetzt werden können

2.4.4. Multipurpose-Testsystem

Die Quadrat- und Doppelquadratraster erfordern aufgrund der hohen Linien- und Punktdichte, die der Anpassung an die auszuwertenden Strukturen und der Erhöhung der statistischen Aussagekraft dienen, einen zeitraubenden und anstrengenden Zählaufwand. Zur Vereinfachung des Verfahrens entwickelte WEIBEL 1966 ein alternatives kohärentes Testsystem, das Multipurpose-Testsystem (Vielzweckraster).

Bei diesem System besitzt die Rastereinheit nicht die Form eines Quadrates, sondern die eines gleichseitigen Rhombus. Das Raster setzt sich aus einzelnen kurzen Testlinien der Länge l zusammen, deren Endpunkte jeweils den Mittelpunkt eines regelmäßigen Dreieckgitters bilden und als Testpunkte dienen.

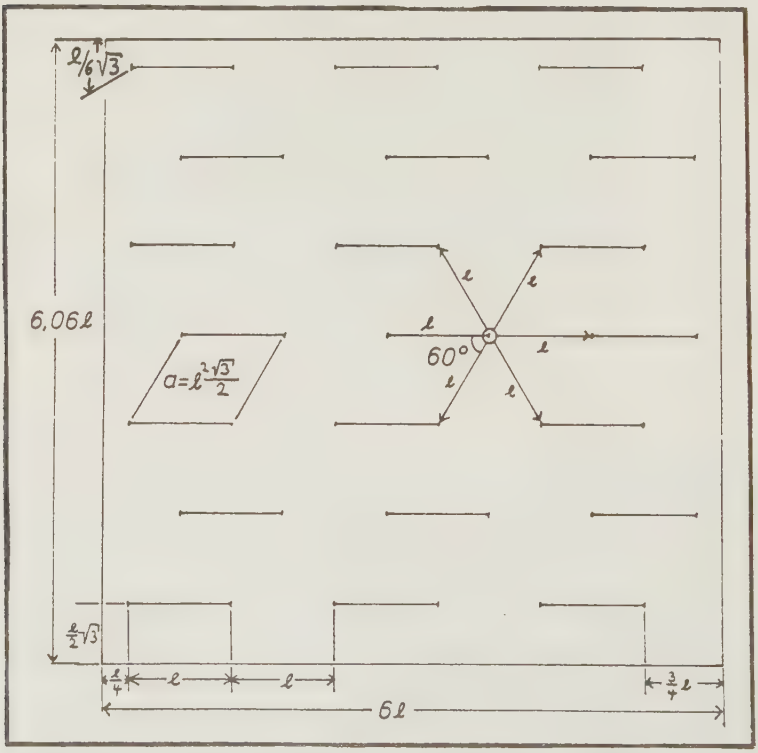


Abb. 10: Multipurpose Testraster (nach WEIBEL u.a. 1967)

Aus der Zeichnung geht hervor, daß auf einen Testpunkt die Länge $l_T = 1/2\ l$ eines Testliniensegmentes entfällt.

Das kleinste, fast quadratische Testgitter, das sich auf diese Weise konstruieren läßt, weist 42 Testpunkte P_T, eine Testlinienlänge L_T von $1/2 \cdot l \cdot P_T$ und eine Testfläche A_T von $\sqrt{3}/2 \cdot l^2 \cdot P_T$ auf.

Für die Auszählungen eignet sich ein Testraster mit genau 100 Testpunkten in besonderem Maße, weil damit eine prozentuale Erfassung möglich ist (vgl. Abb. 11). Ein solches Testraster verwendeten wir bei der in Abschnitt 3.4. beschriebenen Prostatamorphometrie.

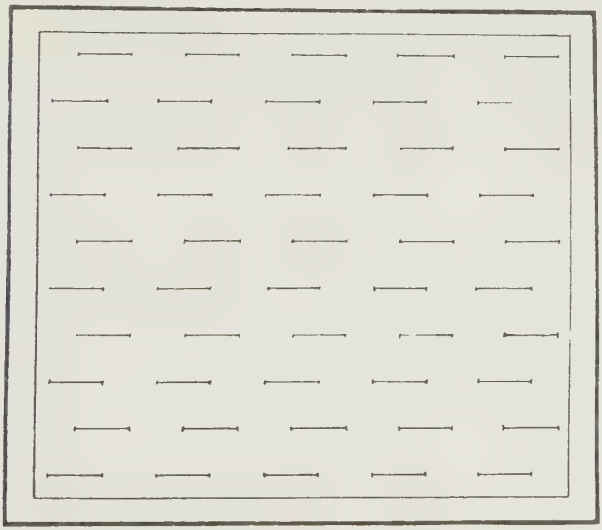


Abb. 11: Multipurpose-Testraster mit 100 Testpunkten
(Verkleinerte Abbildung)

Aus der Anzahl der Schnittpunkte I_i der Struktur i mit den Testliniensegmenten läßt sich auf der Grundlage des Multipurpose-Testrasters die Oberfläche nach folgender Formel bestimmen:

$$S_V = 2\ I_L = 4 \cdot \frac{I_i}{P_T} \cdot l \qquad (5)$$

Dabei ist auf eine Anpassung von Raster und mikroskopischer Vergrößerung zu achten.

2.4.5. Wahl von Testsystem und mikroskopischer Vergrößerung

Nach ROHR & OBERHOLZER (1978) sind Testsysteme und mikroskopische Vergrößerung so zu wählen, daß der mittlere Durchmesser der zu messenden Struktur dem Abstand zwischen zwei Testpunkten entspricht.

Da ein Gewebe aus Strukturen verschiedener Größe besteht, erscheint für die Auswertungsarbeiten die Beibehaltung des Testsystems als ökonomisch sinnvoll. Der Wechsel des Testsystems ist nicht erforderlich, weil die Punktdichte eines Testsystems (d^2) und die mikroskopische Vergrößerung (a^2) zwei voneinander unabhängige Größen sind und deshalb die Variation der Relation d^2/a^2 bereits durch die Änderung der mikroskopischen Vergrößerung erreicht wird. Diese ist stets so zu wählen, daß einerseits ein möglichst großer Gewebsausschnitt mit einem Testfeld erfaßt wird und andererseits die einzelnen Strukturen noch gut erkennbar sind. Zur Erfassung grober Strukturen eignet sich eine kleine Vergrößerung, für feine Strukturen ist dagegen eine starke Vergrößerung notwendig.

2.5. Stereologische Berechnungen

2.5.1. Stichprobennahme (Sampling)

Die Stereologie ist eine Wissenschaft, die mathematische Formeln erstellt (HOPPELER 1973). Da die Methoden der Stereologie grundsätzlich auf den Prinzipien geometrischer Wahrscheinlichkeit beruhen (BARTSCH/ROHR 1979), enthalten die Formeln vorwiegend statistische Größen. Außerdem arbeitet die Stereologie mit einer erheblichen Anzahl von miteinander in Beziehung stehenden Strukturen, für deren Beschreibung sie Einheitsmengen von Parametern ermittelt.

Aufgrund der Orientierung an der Statistik hängt eine erfolgreiche Anwendung stereologischer Methoden von einer fehlerfreien Stichprobensammlung ab. Vor der Auswertung der Stichproben mit Hilfe stereologischer Methoden ist das Material auf seine statistische Vergleichbarkeit zu prüfen. Als Kriterien gelten:

- die Entnahme aus reinen Tierstämmen,
- konstante Versuchsbedingungen,
- eine standardisierte histologische Verarbeitung des Materials.

In der Praxis verläuft das Sampling folgendermaßen:

1. Zerschneiden des zu untersuchenden Organs in kleine Stücke,
2. Herstellung histologischer Präparate von einer bestimmten Stückzahl,
3. Auswahl einiger Präparate zur Analyse,
4. Auswertung eines Gewebsausschnittes durch randomisiertes Bedecken mit Testsystemen,
5. Erfassen der durch einen Testpunkt gekennzeichneten Strukturen mit Hilfe des Punktzählverfahrens (vgl. WEIBEL 1973).

Aus der Beschreibung wird ersichtlich, wie präzise das gesamte Verfahren ablaufen muß, um die wesentlichen Informationen trotz der auf jeder Arbeitsstufe getroffenen Materialauswahl zu erhalten.

Eine Herabsetzung des relativen Standardirrtums RSE gegenüber dem randomisierten Verfahren läßt sich durch Anwendung eines systematischen Samplings, bei dem die Gesichtsfelder nach für den jeweiligen Arbeitsverlauf relevanten Kriterien ausgewählt werden, erzielen. Dabei sind jedoch folgende Voraussetzungen zu beachten:

- eine streng zufällige Bedeckung der auszuwählenden Strukturen mit dem Testsystem,
- die Auswahl von Gewebsschnitten, die keine Interferenzen mit dem Testsystem aufweisen.

Diese Bedingungen treffen auf histologische Schnitte aus der Leber und den meisten Drüsen, so auch der Prostata (vgl. WEIBEL 1973), zu. Im Gegensatz zum Muskelgewebe anderer Organe, das infolge seiner gerichteten Strukturen Interferenzen mit dem Testsystem zeigt, verflechtet sich die glatte Muskulatur der Prostata randomisiert. Zur Erhöhung der Objektivität während des Verfahrens eignet sich ein elektrisch oder mechanisch betriebenes Schrittschaltwerk am Kreuztisch des Mikroskops. Auf diese Weise werden subjektive Einflüsse von seiten des Auswerters ausgeschlossen.

Neben der Herabsetzung des relativen Standardirrtums RSE bietet das systematische Sampling den Vorteil einer ökonomischeren Arbeitsweise, da die Anzahl der Stichproben reduziert werden kann.

Wie beim randomisierten Verfahren ist die Größe des relativen Standardirrtums von der Volumendichte des ausgewerteten Kompartiments abhängig.

Zur Erhöhung der Genauigkeit ist nach GLASER als Maßeinheit zur Flächenmessung und der sich daraus ergebenden Volumenbestimmung ein außerordentlich kleines, im Bedarfsfall (insbesondere bei ebenen Flächen mit krummliniger Begrenzung) ein unendlich kleines Quadrat (Punkt) zu wählen (GLASER 1903).

Neben der Volumendichte stellt die Zahl der ausgewerteten Testpunkte bzw. der mit dem Testsystem bedeckten Gesichtsfelder ein Kriterium für die Reliabilität der Untersuchung dar.

Nach HALLY liegt der erwartete RSE in Abhängigkeit von der Anzahl der ermittelten Testpunkte in einem randomisierten System unter der Kurve $1 / \sqrt{n}$.

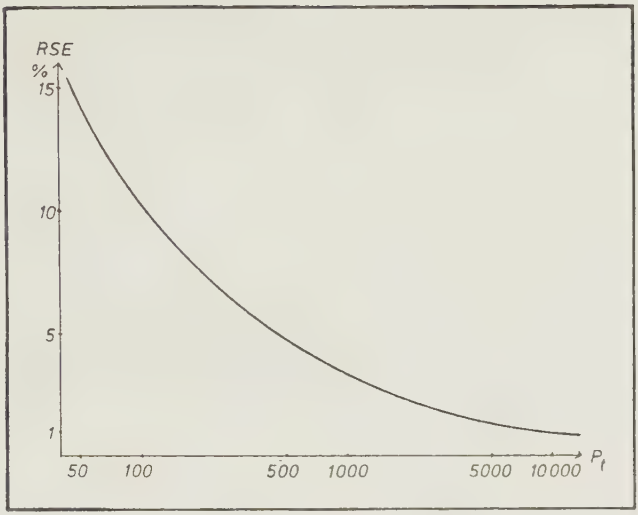


Abb. 12 a: RSE in Abhängigkeit der Testpunktanzahl (HALLY 1964)

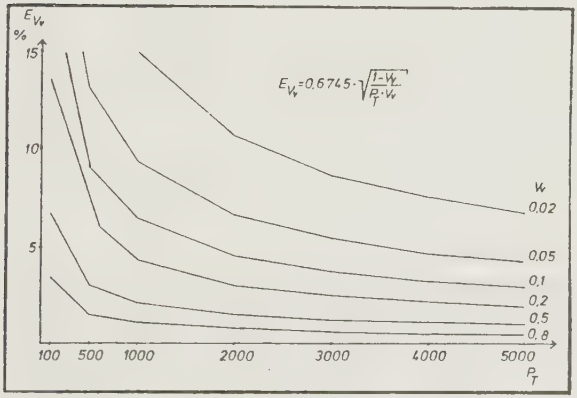


Abb. 12 b: Nomogramm: Abhängigkeit des RSE von der relativen Volumendichte und der ermittelten Punktzahl (modifizierte Abb. nach WEIBEL 1962)

Eine Erweiterung des Samplings ist nach WEIBEL dann erforderlich, wenn der Standardirrtum SE bei der Auswertung eines gegebenen Kompartiments 10 % des über alle Gesichtsfelder bestimmten Mittelwertes überschreitet (WEIBEL 1973).

$$SE_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x}^2)^2}{n\,(n-1)}} \qquad (6)$$

x = Einzelwert $\quad \bar{x}$ = Mittelwert $\quad$ n = Anzahl der Testpunkte

Bei der Auswertung erscheint die Verwendung des relativen Variationskoeffizienten Vr sinnvoller als die des SE, da die Abweichung von der geforderten Genauigkeit vom relativen Anteil der Struktur abhängt (HALLY 1964, SACHS 1978). Der relative Variationskoeffizient läßt sich nach folgender Formel errechnen:

$$Vr\ [\%] = \frac{SE\ /\ \bar{x}}{\sqrt{n-1}} \cdot 100 \quad \text{für } x>0 \qquad (7)$$

Bei in einer Pilotstudie ermittelten Stichproben aus normalverteilten Grundgesamtheiten sollte Vr die Größe 0,33 nicht überschreiten (ROHR 1979). Da in der endgültigen statistischen Analyse neben nichtparametrischen vor allem parametrische Tests verwendet werden, für die die Normalverteilung der Daten eine Voraussetzung darstellt, sind die einzelnen Kollektive auf das Vorliegen einer Normalverteilung hin zu überprüfen. Als Prüfgröße bewährt sich der Quotient R/SD (Spannweite/Standardabweichung), dessen Wert aus der betreffenden Tabelle entnommen werden kann (SACHS 1978). Die Normalverteilung der Daten ist ferner eine Bedingung für die übersichtliche Darstellung der Ergebnisse in Säulenform.

Die Tatsache, daß verschiedene Strukturanteile wegen ihrer unterschiedlichen Größe selbst mit dem Multipurpose-Testsystem nicht auf einer einzigen Auswertungs- bzw. Vergrößerungsstufe ausgewertet werden können, macht eine Durchführung des Samplings bei unterschiedlichen mikroskopischen Vergrößerungen notwendig. Dabei muß bisweilen das Elektronenmikroskop eingesetzt werden.

2.5.2. Verfahren bei inhomogen strukturierten Organen

Bei inhomogener Verteilung von Strukturen ist auf ein streng zufälliges Sampling zu verzichten. Damit wird eine genaue Analyse des Systemfehlers erforderlich (ROHR / OBERHOLZER 1978).

2.5.3. Bestimmung des Stichprobenumfangs

Bei der Bestimmung von relativen Volumendichten (Häufigkeiten) ist die totale Anzahl aller Testpunkte an die erwartete Volumendichte V_{Vi} der auszuwertenden Struktur i und an einen maximal tolerierbaren Fehler E des Mittelwertes von V_{Vi} in % des Mittelwertes anzupassen, um die gegebene statistische Sicherheit z zu erreichen. Voraussetzungen hierfür sind eine Normalverteilung der Daten sowie eine Standardnormalvariable z innerhalb von 50 % der zweiseitigen Standardnormalverteilung. Unter diesen Bedingungen gilt nach ROHR, OBERHOLZER, BARTSCH & KELLER (1976):

$$z = 0,6745 \qquad (8)$$

Die Mindestanzahl von Testpunkten läßt sich nach folgender Formel bestimmen:

$$P_{Tmin} = \frac{z^2(1 - V_{Vi})}{(V_{Vi}) \cdot E^2} \qquad (9)$$

(z = Standardnormalvariable
E = maximal tolerierbarer Fehler des Mittelwertes in % des Mittelwertes)

Um die Vertrauensschranken des erwarteten Endresultates festzulegen und um die Größe des Endresultates sowie die Streuung der Einzelwerte und den Standardfehler abzuschätzen, erscheint die Durchführung eines Pilotversuches hilfreich. Hierbei erlaubt die Erstellung eines Nomogramms die Bestimmung entsprechender Trefferzahlen ohne Rechenaufwand (HENNING 1958; vgl. Abb. 12 b).

2.6. Probleme bei der Bestimmung von absoluten und relativen Dichten in der Morphometrie

Durch die Tötung der Versuchstiere und die anschließende Fixierung der Organe entstehen sowohl submikroskopische Strukturveränderungen als auch meßbare Größenveränderungen im histologischen Schnitt (HAUG 1962). Daher hängt die Gültigkeit stereologischer Daten von der möglichst naturgetreuen Bewahrung der Zell- und Schnittdimension ab (WEIBEL 1973).

2.6.1. Größenveränderung durch Fixierung, Färbung und andere Einflüsse

Morphometrische Ergebnisse können durch Schrumpfungsartefakte, Muskelkontraktion, Schnittechnik in der Histologie, Schnittdicke, Alter des Versuchstieres u.a.m. beeinflußt werden. Ein besonderes, noch nicht zufriedenstellend gelöstes Problem stellen die bei der histologischen Verarbeitung entstehenden Schrumpfungsartefakte dar. Sie sind vorwiegend auf die Fixation und den Einbettungsprozeß zurückzuführen. Die Wirkung verschiedener Fixierungsmittel differiert stark. Über die Frage nach dem optimalen Weg zur Verminderung von Volumenänderungen während des Fixationsprozesses gibt es überraschend wenig objektive Untersuchungen (REITH/BARNARD/ROHR in : Crit. Rev. in Tox. 1976).

Bei der Verarbeitung biologischen Materials von der Fixierung über die Einbettung bis hin zum gefärbten und eingeschlossenen auswertbaren Schnitt treten regelmäßig Schrumpfungen zwischen 20 % und 50 % auf (ZEIGER 1957). Gefrierschnitte können eine Ausnahme bilden, wenn sie in gering verändernden Medien, wie z.B. Osmiumsäure, fixiert werden (ZEIGER 1957, HAUG 1962). Daher ist in der Elektronenmikroskopie gegenwärtig die Fixierung mit Osmiumtetraoxid die Methode der Wahl.

Es ist anzunehmen, daß die relativen Volumenanteile von einzelnen Schnittstrukturen untereinander durch Schrumpfungsartefakte unbeeinflußt bleiben (OBERHOLZER/ DALQUEN/ HUBER / POHP 1976). Schwierigkeiten tauchen hier erst in der Elektronenmikroskopie auf.

Für die Durchführung des Untersuchungsverfahrens ergeben sich folgende Konsequenzen:

- Die Versuchstiere sind zu festen Tageszeiten zu töten, um den Einfluß einer circadianen Rhythmik, und zwar besonders im Hormonhaushalt, auszuschalten (ROHR 1968).
- Bei der Fixierung und der anschließenden histologischen Verarbeitung ist größtmögliche Sorgfalt geboten. Diese Prozesse müssen streng standardisiert ablaufen, um Artefakte unter Kontrolle zu halten (BOLENDER 1974, ROHR 1978).

2.6.2. Korrekturfaktoren für Schrumpfungsprozesse

ROMEIS gibt für die BOUIN-Fixierung mit anschließender standardisierter histologischer Verarbeitung und Paraffineinbettung und nachfolgender GOLDNER-Färbung eine Schrumpfung von 18,5 % an (ROMEIS 1968). Dieser Faktor ändert sich jedoch in Abhängigkeit von dem jeweils bearbeiteten Organ.

Durch den histologischen Schneideprozeß erhält ein biologisches Objekt eine artefizielle Vorzugsrichtung. Da aber alle Schnittpartien gleichartig gestaucht sind, wird die Volumenanalyse nach der Treffermethode nicht verfälscht (SITTE 1967). Allerdings kann sich ein Fehler bei der Oberflächenbestimmung durch die Schnittkompression einschleichen (WEIBEL/ BOLENDER 1973).

Bei der Prostata liegt die Schrumpfung am Ende der Verarbeitung einheitlich für alle Kompartimente bei etwa 10 % (persönliche Mitteilung von DALQUEN 1979).

2.6.3. Bestimmung von Gewicht, Volumen, spezifischem Gewicht und Oberfläche

Stereologisch bestimmte relative Volumina lassen sich in Gewichte bzw. absolute Volumina umwandeln, wenn das spezifische Gewicht des Organs bekannt ist. Für vorwiegend stereologische Studien ist allerdings der jeweilige Relativwert vorzuziehen, um Vergleichbarkeit mit anderen Resultaten zu gewährleisten (ELIAS/HENNING/SCHWARTZ 1971, BOLENDER 1974).

Zur Bestimmung des spezifischen Gewichts eines Organs eignen sich die Überlaufmethode und die MOHR-WESTPHAL'sche Waage. Die Überlaufmethode weist allerdings den Nachteil der Ungenauigkeit bei kleinen Volumina auf. Präzise Angaben liefert das Verfahren mit der MOHR-WESTPHAL'schen Waage, mittels derer sich das spezifische Gewicht unter Ausnutzung des Auftriebs messen läßt (SCHERLE 1969).

Ein mathematisches Verfahren ohne Geräteaufwand geben TUNN u.a. an. Dabei werden die Organe vor der Verarbeitung dreidimensional vermessen. Der Volumenbestimmung liegt folgende Formel zugrunde:

$$V = \frac{4}{3} \pi \cdot \frac{L \cdot B \cdot T}{8} \qquad (10)$$

Aus dem Volumen und einer einfachen Wägung läßt sich das spezifische Gewicht ermitteln (TUNN u.a. in: Acta Endocrinologica 91, 1979). Durch einfache Multiplikation des spezifischen Gewichtes mit dem Absolutgewicht des Organs und den jeweils morphometrisch erfaßten Primärparametern ist die Bestimmung absoluter Volumina und Oberflächen möglich.

Die Ermittlung der Oberflächendichte, nicht aber die der absoluten Volumina erfährt eine Beeinflussung durch Schrumpfungseffekte, da sich die morphometrische Auswertung auf relative Volumenanteile bezieht, aus denen sich erst durch mathematische Umformung mittels des spezifischen Gewichts absolute Volumina ergeben.

2.6.4. Schnittdicke und HOLMES-Effekt

Stereologische Prinzipien beruhen auf der Annahme, daß die Messungen an einem Schnitt der theoretischen Dicke Null durchgeführt werden. Histologische Schnitte besitzen jedoch eine Dicke T. Dementsprechend erhält man auf Photographien und einem Sichtschirm eine Projektion der im Schnitt enthaltenen Strukturen, wobei undurchsichtige (opake) Strukturen überrepräsentiert sind, weil sie durchsichtige verdecken. Diese Überschätzung nennt man HOLMES-Effekt. Er hängt von der Schnittdicke T und dem Durchmesser D der Strukturen ab (ELIAS/HENNING/SCHWARTZ 1971).

Eine exakte mathematische Korrektur des HOLMES-Effektes ist nur bei sphärischen Strukturen möglich. Nach HOLMES und HENNING lassen sich die entstandenen Fehler mit Hilfe folgender Formeln ausgleichen (ELIAS/HENNING/SCHWARTZ 1971):

$$V_{Vi} = \frac{P_{Pi}}{Ko} \qquad (11)$$

$$Ko = 1 + \frac{3}{2}\frac{T}{D} \qquad (12)$$

In biologischen Systemen gibt es allerdings extrem wenige Partikel, die so opak sind, daß der HOLMES-Effekt auftritt. Dazu gehören z.B. Melanophoren und verkalkte Gewebsanteile. Bei der Auswertung zusammenhängender Drüsensysteme wie in der Prostata spielt er keine Rolle.

Trotzdem ist auf eine möglichst dünne Schnittdicke zu achten, denn bei dicken Schnitten erscheint nicht nur der an der Schnittebene liegende Strukturanteil in der Projektion, sondern auch der unter der Schnittebene verlaufende Abschnitt. Auf diese Weise sind insbesondere kleine Strukturen (z.B. Muskelzellen, Kapillaren, Kollagenfasern usw.) überrepräsentiert (OEHMICHEN/DALQUEN/HUBER/POHL 1977).

2.7. Basissymbole der Stereologie

Zum besseren Verständnis der nachfolgenden Abschnitte ist an dieser Stelle eine Liste der Basissymbole (Primär- und Sekundärparameter) der Stereologie auf der Grundlage der Definition der Deutschen Gesellschaft für Stereologie aufgeführt, wobei die Einheitsfläche in der Regel als 1 cm^2 und das Einheitsvolumen als 1 cm^3 definiert sind (UNDERWOOD 1975).

Symbol	Dimension	Definition
P	1	Anzahl der Punkte
L	cm	Länge von Testlinien oder Linienelementen
A	cm^2	Testfläche oder Objektquerschnitt
S	cm^2	Ober- oder Grenzfläche
V	cm^3	Testvolumen
P_V	cm^{-3}	Punktdichte
S_V	cm^{-3}	Oberflächendichte
V_V	1	Volumendichte

Tab. 1: Basissymbole

Auf diesen Basissymbolen bauen sich die in Tabelle 2 vorgestellten speziellen Symbole und Abkürzungen der Prostatamorphometrie auf.

Symbol	Dimension	Definition
		Absolutes Volumen
V_P	cm^3	- der Prostata
V_{AP}	cm^3	- des acinären Parenchyms
V_{AC}	cm^3	- des Drüsenepithels
V_{ACM}	cm^3	- der metaplastischen Epithelzellen
V_{AL}	cm^3	- der Drüsenlumina
V_{ST}	cm^3	- des Stromas
V_{SMC}	cm^3	- der glatten Muskulatur (smooth muscle-cells)
V_{RST}	cm^3	- des Reststromas ohne glatte Muskulatur
I_{AC}	0	Anzahl der Durchstoßpunkte

Tab. 2 (Fortsetzung s. nächste Seite)

Fortsetzung Tab. 2 :

Symbol	Dimension	Definition
V_{VP}	cm^3	Einheitsvolumen 1 cm^3 Prostatagewebe oder Testvolumen
V_{VAP}	cm^3	Bezugsvolumen I oder 1 cm^3 acinäres Parenchym
$V_{VST,ST}$	cm^3	Bezugsvolumen II oder 1 cm^3 Stroma
$V_{VAC,AC}$	cm^3	Bezugsvolumen III oder 1 cm^3 Drüsenepithel
S_{AC}	cm^2	absolute Oberfläche des Drüsenepithels der Prostata
L_P	cm	absolute Länge des Drüsensystems der Prostata

Tab. 2: Spezielle Symbole und Abkürzungen der Prostatamorphometrie

Ferner ist der folgende allgemeine Ausdruck für die späteren Ausführungen von Bedeutung:

$V_{VX,Y}$ ≙ Volumendichte des Kompartimentes X, bezogen auf das Referenzsystem Y

Diese Aussage sowie die voranstehenden Tabellen verdeutlichen alle im folgenden auftauchenden stereologischen Symbole, die deshalb nicht noch einmal gesondert aufgeführt und erläutert werden müssen.

2.8. Stereologische Kaskade

Um gültige Aussagen über die relativen Volumina, Oberflächen und Anzahlen von Organstrukturen, ihre Kompartimente sowie die in ihnen enthaltenen Unterstrukturen zu bekommen, führt man lichtmikroskopische Untersuchungen in steigenden Vergrößerungsstufen durch, bis schließlich der Übergang auf die Elektronenmikroskopie erfolgt. Um alle Ergebnisse miteinander relativieren zu können, erarbeiteten ROHR u.a. ein Verfahren, das sie"stereologische Kaskade" nannten.

Das Prinzip der stereologischen Kaskade beruht auf der Einführung von Referenzvolumina auf jeder Vergrößerungs- bzw. Auswertungsstufe, auf die sich die Volumina der anderen Stufen beziehen lassen (BOLENDER 1974, BARTSCH 1977).

Die folgende Abbildung verdeutlicht das Prinzip der stereologischen Kaskade am Beispiel der Prostata.

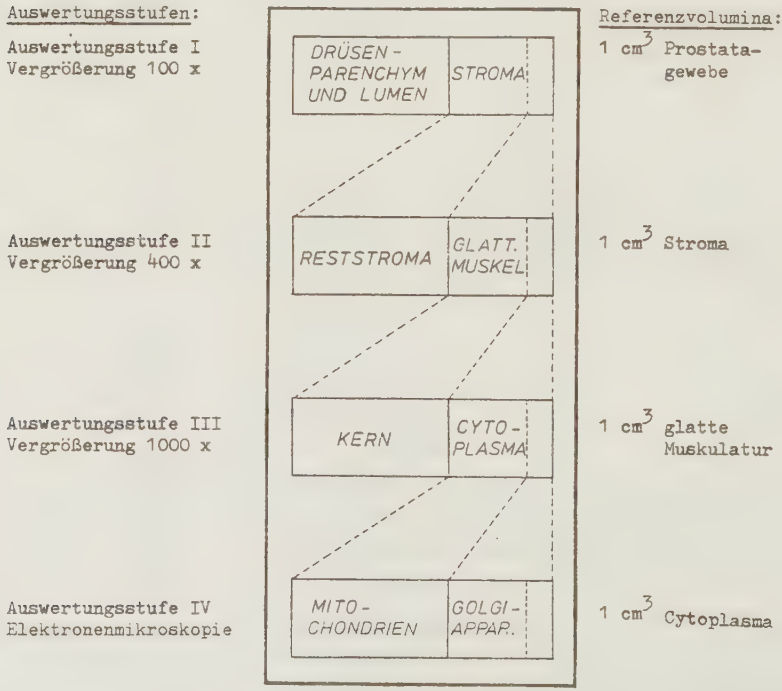
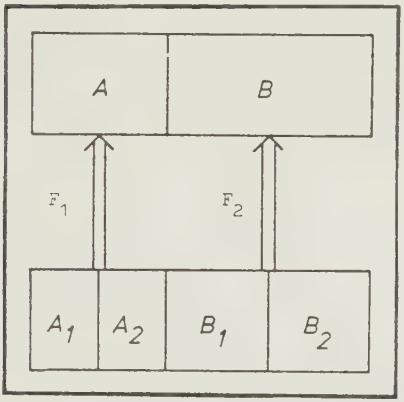


Abb. 13: Prinzip der stereologischen Kaskade am Beispiel der Prostata

Da in den verschiedenen Auswertungsstufen bei jeweils unterschiedlichen Vergrößerungen zur Volumenbestimmung eines Kompartimentes unterschiedliche Punktsummen erzielt werden, ist das dem Testvolumen mit den meisten Testpunkten pro Volumenanteil nächsthöhere Kompartiment mit dem Faktor F anzupassen.

Der Faktor F läßt sich wie folgt ermitteln:



Auswertungsstufe I:

$$A + B = 1 \qquad (13)$$

Auswertungsstufe II:

$$A_1 + A_2 + B_1 + B_2 = 1 \qquad (14)$$

Abb. 14: Ermittlung des Anpassungsfaktors F

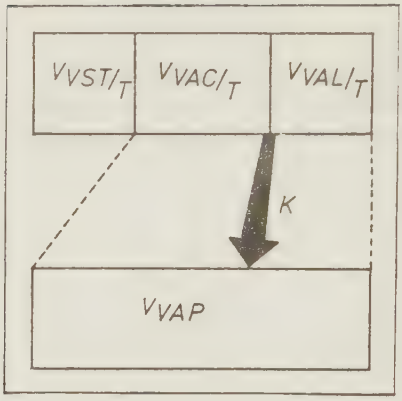
$$A = F_1 \cdot (A_1 + A_2) \qquad (15)$$

$$F_1 = \frac{1}{A_1 + A_2} \qquad (16)$$

$$F_2 = \frac{1}{B_1 + B_2} \qquad (17)$$

Bei diesen Formeln sollte F nicht größer als 1,3 sein (ROHR 1979).

Um die Volumenanteile einer Struktur am jeweils gewählten Bezugsvolumen oder Referenzsystem zu erhalten, sind die Volumendichten des Testvolumens mit dem Faktor K umzurechnen.



Testvolumen: 1 cm^3 Prostatagewebe

Bezugsvolumen: 1 cm^3 Drüsenepithel und Lumen

Abb. 15: Ermittlung des Umrechnungsfaktors K

$$(V_{VAC/T} + V_{VAL/T}) \cdot K = 1 \qquad (18)$$

$$(1 - V_{VST/T}) \cdot K = 1 \qquad (19)$$

$$K = \frac{1}{1 - V_{VST/T}} \qquad (20)$$

$$V_{VAC/T} \cdot K = V_{VAC/\text{Bezugsvolumen}} \qquad (21)$$

3. Stereologische Ergebnisse am lichtmikroskopischen Modell der Hundeprostata

3.1. Zielsetzung, Methode und Material

Ziel der nachfolgend beschriebenen Versuchsreihe war die quantitative Erfassung des Einflusses von Androgenen, Östrogenen und Antiandrogenen auf die acinären und stromalen Anteile der Prostata (vgl. auch TUNN u.a. in: Investigative Urology, 1980 ; TUNN u.a. in: Verhandlungsbericht der Deutschen Gesellschaft für Urologie, 1980). Als Versuchstiere dienten Hunde, und zwar eigens für Laborzwecke gezüchtete Beagle-Rüden. Diese Wahl läßt sich aus mehreren Gründen rechtfertigen (vgl. RICHTER 1975):

- Die Prostata von Hunden weist eine mit der des Menschen vergleichbare topographische Anatomie auf.
- Die Prostatadrüsenzellen beider Spezies unterscheiden sich hinsichtlich der lichtmikroskopisch sichtbaren morphologischen Grundmuster nur geringfügig voneinander.
- Hunde entwickeln ebenso wie Menschen unter geriatrischen Konditionen eine Atrophie oder eine Hyperplasie der Prostata und bei einem Überangebot an Östrogenen eine Metaplasie der Prostatazellen.

Der der vorliegenden Arbeit zugrunde liegende Versuch wurde wie folgt eingeleitet:

Die ausgewählten 23 männlichen Hunde besaßen ein mittleres Alter von 552 ± 39 Tagen. Alle Tiere wurden unter standardisierten Bedingungen gehalten und erhielten das gleiche Futter sowie Wasser nach Belieben. Vor der Hormonbehandlung erfolgten die retroperitoneale Freilegung der Prostata und anschließend unter Verwendung eines Meßzirkels die Bestimmung der craniocaudalen Länge, der dorsoventralen Tiefe sowie der Breite. Danach wurden die Hunde in 5 Gruppen eingeteilt.

Die Gruppe I stellte die Kontrollgruppe dar, die aus 3 unbehandelten Tieren bestand. Die Hunde der restlichen Gruppen wurden kastriert und einer bestimmten, aus der nachfolgenden Übersicht zu entnehmenden Hormonbehandlung unterzogen:

Gruppe	Hormone
II	5 α - Androstan - 3 α - 17 β - diol (Adiol)
III	Adiol und Östradiol (E_2)
IV	Adiol und Cyproteronacetat (CPA)
V	Adiol, E_2 und CPA

Tab. 3 : Hormonbehandlung der Versuchsgruppen

Die Steroide wurden in 1 ml Benzylbenzoat/Kastoröl (Ricinusöl) im Verhältnis 1 : 10 gelöst. Die Injektion von Adiol und E_2 erfolgte tief intramuskulär. CPA wurde nach Lösung in 2 ml Benzylbenzoat/ Kastoröl subkutan verabreicht. Die Gesamtdosis pro Woche betrug für jeden Hund 600 mg CPA, 75 mg Adiol und 0,75 mg E_2. Der Versuch lief über einen Zeitraum von 6 Monaten.

Nach Versuchsabschluß wurden die Prostatae herauspräpariert, gesäubert, gewogen und wie vor Versuchsbeginn vermessen.

3.2. Herstellung der auszuwertenden histologischen Schnittpräparate

Der Fixierung des Gesamtorgans diente die BOUIN'sche Lösung. Es folgte die Entnahme standardisierter Biopsien, die en bloc nach der Methode von GOLDNER gefärbt wurden. Dabei erhalten das Bindegewebe eine grüne, das Drüsenepithel eine braun-rote und die glatte Muskulatur eine grau-braune Farbe (ROMEIS 1968).

Die histologische Aufarbeitung erfolgte in Stufenschnitten mit einer Schnittdicke zwischen 3 und 5 µ. Für die morphometrische Auswertung wurde jeder 21. Schnitt ausgewählt, was einem Abstand von etwa 100µ entspricht. Somit war ein standardisiertes Sampling durch das Gesamtorgan gewährleistet.

3.3. Lichtmikroskopisches Morphometriemodell der Hundeprostata

Die Prostata unterteilen wir in folgende morphologisch definierte Kompartimente:

- das Acinusparenchym (AP), das aus Acinuszellen (AC), metaplastisch umgewandelten Acinuszellen (ACM) und dem Acinuslumen (AL) besteht, und
- das Stroma (ST), das wir hier nur in glatte Muskelzellen (SMC) und Residualstroma ($_{R}$ST) gliedern.

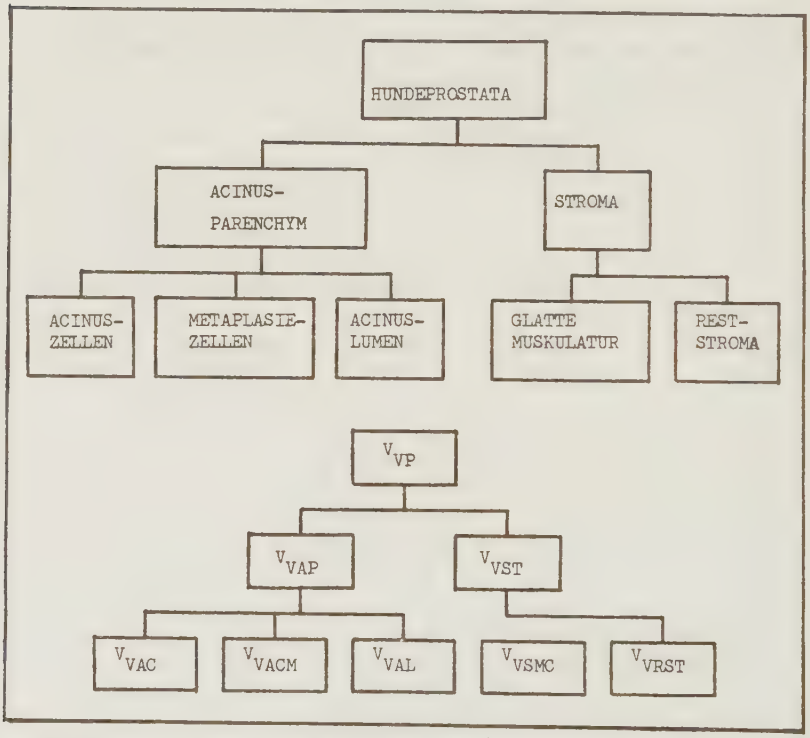


Abb. 16: Lichtmikroskopisches Morphometriemodell der Organbestandteile der Hundeprostata und deren morphometrische Kompartimentierung

3.4. Auswertungsstufe I, dargestellt am Beispiel der Gruppe I

3.4.1. Verfahrensweise

Der Auswertung diente ein REICHERT-Visopan-Projektionsmikroskop. Der Sichtschirm enthielt ein WEIBEL-Multipurpose-Raster mit einer Punktzahl von P_T = 100 und einer totalen Länge der Testlinien von L_T = 62,5 cm. Die morphometrische Auswertung erfolgte bei 125facher Vergrößerung. Die histologischen Schnitte wurden bedeckend, d.h. mit lückenlos aneinandergereihten Gesichtsfeldern, ausgewertet. Randständige Gesichtsfelder fanden nur dann Berücksichtigung, wenn das Prostatagewebe mindestens 50 % der Gesichtsfeldfläche einnahm. Die Verbindung zwischen den peripheren Läppchengrenzen erfolgte durch eine tangentiale Linie. Das peripher dieser Linie gelegene Gewebe wurde außer acht gelassen.

3.4.2. Kompartimente und Berechnungen

Für das weitere Vorgehen erwiesen sich folgende Zusammenhänge als grundlegend:

Aus den ausgewerteten Kompartimenten der einzelnen Gewebsanteile ergibt sich eine bestimmte Punktdichte, mit deren Hilfe sich die Volumendichte im Einheitsvolumen erfassen läßt, was folgende Übersicht im einzelnen zeigt:

Ausgewertete Kompartimente	Punktdichte	Volumendichte im Einheitsvolumen
Drüsenlumen AL und Acinuszellen AC	P_{AP}	$V_{VAP,P}$
Stroma ST	P_{ST}	$V_{VST,P}$

Tab. 4: Zusammenhänge zwischen Kompartimenten, Punkt- und Volumendichten

Steht, wie in einem Pilotversuch ermittelt, das Stroma zu dem Acinusepithel und dem Lumen in einem Verteilungsverhältnis von 25 : 75 , so läßt sich nach Gleichung (9) folgende minimal notwendige Anzahl auszuwertender Testpunkte errechnen:

Volumendichte	$P_{Tmin} = f(V_{Vi})$ für z = 0,6745			
	E = 10 %	E = 7,5 %	E = 5 %	E = 1 %
$V_{VST,P} = 0,25$	137	243	546	13648
$V_{VAP,P} = 0,75$	16	27	61	1516

Tab. 5: Mindestanzahl auszuwertender Testpunkte unter Berücksichtigung der statistischen Sicherheit

Tatsächlich wurden in dieser Auswertungsstufe 1475 Gesichtsfelder ausgezählt und 36875 Testpunkte für $V_{VST,P}$ sowie 110625 Testpunkte für $V_{VAP,P}$ ermittelt. Bei dieser erhöhten Anzahl von Testpunkten beträgt die statistische Sicherheit 99,4 %, wie sich durch Umformung von Gleichung (9) berechnen läßt:

$$P_{Tmin} = \frac{z^2 \cdot (1 - V_{Vi})}{V_{Vi} \cdot E^2} \qquad (9)$$

$$E_{Vv} = 0,6745 \cdot \sqrt{\frac{1 - Vv}{P_T \cdot Vv}} \qquad (9\,a)$$

Den Fehler in der I. Auswertungsstufe möglichst klein zu halten, ist deshalb bedeutungsvoll, weil diese Stufe die Grundlage der stereologischen Kaskade und somit Bezugsgröße für alle Werte der II. Auswertungsstufe ist.

3.4.3. Statistische Basiswerte

Aus 3 Versuchstieren wurden unter Zuhilfenahme eines HEWLETT - PACKARD - 9815A - Computers im wesentlichen folgende Werte für $V_{VAP,P}$ ermittelt [1]:

- Arithmetisches Mittel	0,746
- Geometrisches Mittel	0,746
- Harmonisches Mittel	0,746
- Varianz	0,001
- Standardabweichung SD	0,002
- Standardirrtum SE	0,001
- R/SD-Quotient	1,964

Die Auswertung des Kompartiments V_{VST} vollzog sich in derselben Art.

---

[1] Anmerkung: Die ausführlichen Originalausdrucke sind unter folgender Anschrift hinterlegt: Urologische Universitätsklinik der Ruhr-Universität Bochum, Marienhospital, Widumer Str.8, 4690 Herne 1

3.5. Auswertungsstufe II, dargestellt am Beispiel der Gruppe I

3.5.1. Verfahrensweise

In der II. Stufe erfolgte die Auswertung bei 400facher Vergrößerung und unter Verwendung desselben Rasters wie in Stufe I. Um ein streng randomisiertes Sampling zu erzielen, wurde mit Hilfe eines mechanischen Schrittschaltwerkes am Objekttisch nur jedes 5. Gesichtsfeld ausgezählt. Dabei mußten allerdings 25 Gesichtsfelder pro Schnitt gewährleistet sein. Randständige Gesichtsfelder fanden nur dann Berücksichtigung, wenn sie vollständig von Prostatagewebe ohne Kapsel bedeckt wurden.

Zusätzlich erfolgte in dieser Stufe die Bestimmung der Oberflächendichte des Drüsenepithels. Dazu wurden die Durchstoßpunkte der Lumen-Epithelgrenzen mittels der Rasterlinien gezählt.

3.5.2. Kompartimente und Berechnungen

Grundlegend waren auch auf dieser Stufe die sich aus der Auswertung der einzelnen Kompartimente ergebenden Punkt- und Volumen- bzw. Oberflächendichten, die im folgenden aufgeführt sind.

Ausgewertete Kompartimente	Punktdichte	Volumen- bzw. Oberflächendichte im Einheitsvolumen
Acinuslumen AL	P_{AL}	$V_{VAL,P}$
Acinusepithel AC	P_{AC}	$V_{VAC,P}$
Glatte Muskulatur SMC	P_{SMC}	$V_{VSMC,P}$
Reststroma RST	P_{RST}	$V_{V_RST,P}$
Durchstoßpunkte $I_{AC/AL}$	$P_{IAC/AL}$	$S_{VAC,P}$

Tab. 6: Zusammenhänge zwischen Kompartimenten, Punkt- und Volumen- bzw. Oberflächendichten

Bei in einem Pilotversuch ermittelten Anteilen von 51 % Acinusepithel, 24 % Lumen, 23 % Reststroma und 2 % glatter Muskulatur ergibt sich nach Gleichung (9) folgende Mindestanzahl auszuwertender Testpunkte:

Volumendichte	$P_{Tmin} = f(V_{Vi})$ für z = 0,6745			
	E = 10 %	E = 7,5 %	E = 5 %	E = 1 %
$V_{VAC,P} = 0,51$	44	78	175	4371
$V_{VAL,P} = 0,24$	145	257	578	14407
$V_{V_KST,P} = 0,23$	153	271	610	15231
$V_{VSMC,P} = 0,02$	2230	3964	8917	222926

Tab. 7: Mindestanzahl auszuwertender Testpunkte unter Berücksichtigung statistischer Sicherheit

In dieser II. Stufe waren 800 Gesichtsfelder auswertbar. Daraus ergaben sich 80000 Testpunkte, von denen 40800 auf $V_{VAC,P}$, 19200 auf $V_{VAL,P}$, 18400 auf $V_{VRST,P}$ und 1600 auf $V_{VSMC,P}$ entfielen.

Nach Tabelle 7 ist die statistische Sicherheit für $V_{VAC,P}$, $V_{VAL,P}$ und $V_{VRST,P}$ > 99 %. Der Fehler für $V_{VSMC,P}$ liegt nur scheinbar höher als 10 %, da sich dieser Wert summativ aus den übrigen ergibt und deshalb aus mathematischen Gründen dieselbe Sicherheit aufweist wie die übrigen Werte (> 99 %).

Müssen gleichzeitig mehrere kleine Kompartimente bestimmt werden, so ist eine III. Auswertungsstufe mit angepaßter mikroskopischer Vergrößerung erforderlich. Dies erwies sich bei vorliegender Versuchsreihe als überflüssig.

4.5.3. Statistische Basiswerte

Die Erhebung der statistischen Basiswerte erfolgte wie in der I. Auswertungsstufe (vgl. Abschnitt 3.4.3.). Die Werte können der Graphik bzw. der Tabelle 11 entnommen werden (vgl. Abschnitt 3.10.1.).

3.6. Verknüpfung der Auswertungsstufen I und II unter Berücksichtigung von Korrekturfaktoren, dargestellt am Beispiel der Gruppe I

3.6.1. Ermittlung absoluter und relativer Volumina mit Hilfe des spezifischen Gewichts

Zur Erfassung der relativen und absoluten Volumen- bzw. Gewichtsanteile der einzelnen Kompartimente war eine Anpassung der II. Auswertungsstufe an die I. Stufe mittels der Gleichungen (16) und (21) notwendig. Aufgrund des durchschnittlichen Gewichts der Prostatae von 10,567 g und des sich daraus mit Hilfe von Gleichung (10) errechneten spezifischen Gewichts von 1,367 g/cm^3 ergaben sich folgende relative und absolute Volumen- und Gewichtsanteile:

$V_{AS,E}$	= 3,4 [illegible] cm^3	≙ 0,[illegible] %
$V_{AL,E}$	= 0,[illegible] cm^3	≙ 0,[illegible] %
$V_{RST,E}$	= 1,[illegible] cm^3	≙ 0,[illegible] g
$V_{SMC,E}$	= 0,[illegible] cm^3	≙ 0,[illegible] g

Tab. 8: Relative Volumina und Gewichte

V_{AS}	= 3,9[illegible] cm^3	≙ 5,3[illegible] g
V_{AL}	= 1,[illegible]55 cm^3	≙ 2,53[illegible] g
V_{RST}	= 1,770 cm^3	≙ 2,-20 g
V_{SMC}	= 0,193 cm^3	≙ 0,26[illegible] g

Tab. 9: Absolute Volumina und Gewichte

In diesem Abschnitt ging es darum, die prinzipielle Möglichkeit aufzuzeigen, wie man mit Hilfe des spezifischen Gewichts absolute Volumenanteile erheben kann. Da sich für unseren Versuch herausstellte, daß durch die histologische Verarbeitung des Materials und die relativ kleinen Volumina und Gewichte der Fehler zu groß bzw. nicht genau abschätzbar und damit der Informationsgehalt zu gering waren, unterblieb diese Berechnung für die anderen Gruppen. Sie erübrigte sich zudem

deshalb, weil Gruppenvergleiche angestellt wurden, zu denen sich die morphometrischen Primärparameter wesentlich besser eignen. Dieses Vorgehen verlangt eine Gleichsetzung von 1 g und 1 cm^3, von der im folgenden ausgegangen wird.

3.6.2. Stereologische Kaskade

Eine Grundlage für die nachfolgenden Überlegungen stellt die stereologische Kaskade dar (vgl. Abschnitt 2.8.). Mit ihrer Hilfe lassen sich Bezugsvolumina erstellen, in denen die Anzahl der Kompartimente im Vergleich zum Testvolumen reduziert ist. Dies ermöglicht relativierte Aussagen über Zu- oder Abnahmen von Einzelkompartimenten.

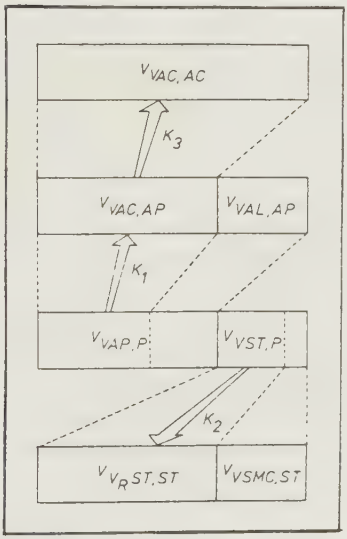


Abb. 18: Stereologische Kaskade als Grundlage der Prostatamorphometrie in der Lichtmikroskopie

3.7. Berechnung der Oberflächendichte

Das in der Versuchsreihe verwendete Multipurpose-Raster wies eine totale Länge L_T der Testlinien von 62,5 cm auf. Die einzelne Testlinie war 1,25 cm lang, und die Anzahl der Testpunkte betrug 100. Die mikroskopische Auswertung wurde bei 400facher Vergrößerung durchgeführt. Aus diesen Werten ergab sich mit Hilfe der Gleichungen (4) und (5) zur Berechnung der Oberflächendichte eine Konstante von 12,8:

$$S_{Vi} = \frac{4 \cdot Ii \cdot 400}{100 \cdot 1{,}25} \qquad (22)$$

$$= 12{,}8 \cdot Ii$$

In der Gruppe I der Versuchsreihe wurden durchschnittlich 15,51 Durchstoßpunkte I erfaßt. Mittels Gleichung (22) ließ sich somit eine Oberfläche von 198,528 cm^2 im Einheitsvolumen (1 cm^3 Prostata) errechnen. Nach Umformung mit dem Faktor K_3 entspricht dies 576,984 cm^2 im Bezugsvolumen III (1 cm^3 Drüsenepithel). Auf diese Weise ergab sich aus dem Gewicht der Prostata von 10,567 g eine absolute Oberfläche von 2098 cm^2. Eine Formel zur Überprüfung dieses Ergebnisses findet sich bei STUTTE und HEUSERMANN (1972), die in einer morphometrischen Studie über die menschliche Milz u.a. die Sinusoberfläche bestimmt haben:

$$S = L \cdot \sqrt{4\pi \cdot \frac{V}{L}} \qquad (23)$$

Setzt man die Werte für L = 136400 cm (vgl. Abschnitt 3.8.,Gleichung (27)) und $V = V_{AL,P} = 2{,}568$ ein, so erhält man für S=2098 cm^2, was mit dem mittels Gleichung (22) errechneten Wert übereinstimmt. Damit erweisen sich die Werte für Radius und Länge als brauchbar sowie das Modell zur Erfassung von Oberfläche, Länge und Radius, das im nachfolgenden Abschnitt beschrieben wird, als anwendbar.

3.8. Mathematisches Modell zur Berechnung von Radius und Länge eines Drüsensystems

Betrachtet man die Drüsen der Prostata mathematisch idealisiert als Zylinder, so läßt sich dessen Radius und Höhe mit Hilfe der nachfolgenden Gleichungen (24), (25), (26) und (27) aus dem Volumen $V_{AL,P}$ und der Oberfläche $S_{AL,P}$ ermitteln.

Volumen: $V = \pi r^2 l$ (24)

Oberfläche: $A = 2\pi r \cdot l$ (25)

Radius: $r = 2 \cdot \frac{V_{AL,P}[\mu^3]}{S_{AC,P}[\mu^2]}$ (26)

Länge: $l = \frac{S_{AC,P}[\mu^2]}{2\pi \cdot r}$ (27)

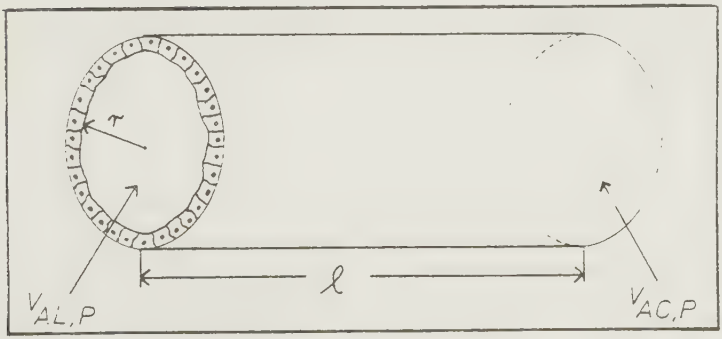


Abb. 19: Zylindermodell eines Drüsenschlauches

Für die Gruppe I ergab sich ein Radius von 24 μ und eine totale Länge des Drüsensystems von $1{,}364 \cdot 10^9 \mu$ = 1,3 km; dies entspricht einer Länge von 130,7 m pro cm^3 Prostatagewebe.

3.9. Zusammenfassung der Ergebnisse der Gruppe I

Die Zusammenfassung der Ergebnisse erfolgt aus Gründen der Übersichtlichkeit in tabellarischer Form.

Primärparameter	
Anzahl der Versuchstiere	3
Durchschnittliches Gewicht der Prostata	10,567 g
Durchschnittliches Volumen der Prostata	7,728 cm^3
Spezifisches Gewicht	1,367 g/ cm^3
Statistische Angaben und Ergebnisse der Auswertungsstufe I	
Schnitte	39
Gesichtsfelder	1475
Ausgewertete Testpunkte	147500
Kompartimente	
$V_{VAP,P}$	0,746 cm^3
$V_{VST,P}$	0,254 cm^3
V_{AP}	7,883 cm^3
V_{ST}	2,588 cm^3
Statistische Angaben und Ergebnisse der Auswertungsstufe II	
Schnitte	32
Gesichtsfelder	800
Ausgewertete Testpunkte	80000
Kompartimente	
$V_{VAL,P}$	0,240 cm^3
$V_{VAC,P}$	0,506 cm^3

Tab. 10 (Fortsetzung s. nächste Seite)

Fortsetzung von Tabelle 10:

Kompartimente	
$V_{V_R ST,P}$	0,229 cm^3
$V_{VSMC,P}$	0,025 cm^3
$V_{VAC,AP}$	0,678 cm^3
$V_{VAL,AP}$	0,322 cm^3
$V_{V_R ST,ST}$	0,910 cm^3
$V_{VSMC,ST}$	0,090 cm^3
V_{AL}	2,536 cm^3
V_{AC}	5,347 cm^3
$V_{R ST}$	2,420 cm^3
V_{SMC}	0,264 cm^3
I_{AC}	15,51
$S_{AC,P}$	198,528 cm^2
$S_{AC,AC}$	576,984 cm^2
S_P	2098,000 cm^2
l_P	130,700 m
l	1364,000 m
r	24,000 µ

Tab. 10: Zusammenfassung der Ergebnisse der oben dargestellten Prostatamorphometrie

3.10. Besonderheiten bei der Auswertung der Gruppen II bis V

Die Auswertung der Gruppe II verlief problemlos.

Dagegen tauchte in der Gruppe III aufgrund der Behandlung mit Adiol und E_2 eine metaplastische Umwandlung des Drüsenepithels auf. Durch die massive Schichtung der Metaplasien und die Verstopfung der Ausführungsgänge wurden die Drüsenschläuche zystisch erweitert. Eine Interferenz zwischen Testsystem und den großen Lumina war nicht mit Sicherheit auszuschließen. Das Multipurpose-Testsystem war damit in der Auswertungsstufe II überfordert, was sich in dem sehr hohen Standardirrtum (0,109) ausdrückt.

In der Gruppe IV, die mit Adiol und CPA behandelt wurde, fand sich eine Involution der Prostata mit sehr kleinen atrophierten Drüsenzellen und Lumina. Daraus ergaben sich in der Auswertungsstufe I Probleme hinsichtlich der Anpassung des Testsystems an die auszuwertende Struktur bzw. bezüglich der mikroskopischen Vergrößerung. Diese Schwierigkeiten ließen sich jedoch durch die Kombination mit Auswertungsstufe II aufgrund der hier angepaßten Vergrößerung beheben. Dies beweist auch der unter 10 % liegende effektive Fehler.

In der Gruppe V, die eine Behandlung mit Adiol, E_2 und CPA erfuhr, zeigte sich ebenfalls eine Involution der Prostata. Neben atrophierten Drüsenzellen traten zudem Metaplasien auf, die gesondert ausgezählt wurden.

3.11. Tabellarisierte Ergebnisse aus den Gruppen I bis V

In der unten aufgeführten Tabelle 11 sind sämtliche Werte der morphometrischen Prostataanalyse nach ihrer Berechnung mit einem HEWLETT-PACKART-9815A- Computer aufgeführt. Diese Übersicht bildet die Grundlage für die statistische Analyse.

KOMPARTIMENT SYMBOL EINHEIT	GRUPPE	$\bar{X}$	SE
GEWICHT V_P g	I	10,567	2,019
	II	19,680	5,632
	III	27,465	8,355
	IV	2,580	0,231
	V	4,940	0,269
ACINUS - PARENCHYM $V_{VAP,P}$ cm^3/cm^3	I	0,746	0,001
	II	0,836	0,013
	III	0,705	0,004
	IV	0,120	0,005
	V	0,199	0,018
STROMA $V_{VST,P}$ cm^3/cm^3	I	0,254	0,001
	II	0,164	0,013
	III	0,295	0,004
	IV	0,880	0,005
	V	0,801	0,020
ACINUS - EPITHEL $V_{VAC,P}$ cm^3/cm^3	I	0,506	0,020
	II	0,568	0,018
	III	0,204	0,026
	IV	0,121	0,006
	V	0,103 (AC) 0,038 (ACM)	0,013 (AC) 0,012 (ACM)
LUMEN $V_{VAL,P}$ cm^3/cm^3	I	0,240	0,020
	II	0,268	0,022
	III	0,501	0,109
	IV	0,013	0,004
	V	0,058	0,017

Tab. 11 (Fortsetzung s. nächste Seite)

KOMPARTIMENT SYMBOL EINHEIT	GRUPPE	$\bar{X}$	SE
RESTSTROMA $V_{V_R ST,P}$ cm^3/cm^3	I	0,229	0,003
	II	0,149	0,018
	III	0,280	0,085
	IV	0,846	0,008
	V	0,755	0,018
GLATTER MUSKEL $V_{VSMC,P}$ cm^3/cm^3	I	0,025	0,002
	II	0,015	0,001
	III	0,015	0,002
	IV	0,020	0,002
	V	0,046	0,013
ACINUS-EPITHEL $V_{VAC,AP}$ cm^3/cm^3	I	0,678	0,027
	II	0,679	0,023
	III	0,289	0,094
	IV	0,903	0,016
	V	0,518 AC 0,191 ACM	0,044 AC 0,050 ACM
LUMEN $V_{VAL,AP}$ cm^3/cm^3	I	0,322	0,027
	II	0,321	0,023
	III	0,711	0,094
	IV	0,097	0,016
	V	0,291	0,036
RESTSTROMA $V_{V_R ST,ST}$ cm^3/cm^3	I	0,910	0,008
	II	0,909	0,007
	III	0,949	0,014
	IV	0,977	0,003
	V	0,943	0,020

Tab. 11 (Fortsetzung s. nächste Seite)

KOMPARTIMENT SYMBOL EINHEIT	GRUPPE	$\bar{X}$	SE
GLATTER MUSKEL $V_{VSMC,ST}$ cm^3/cm^3	I	0,090	0,008
	II	0,091	0,007
	III	0,051	0,014
	IV	0,023	0,003
	V	0,057	0,015
ACINUS-PARENCHYM V_{AP} cm^3	I	7,883	1,504
	II	16,452	5,123
	III	19,363	6,865
	IV	0,310	0,034
	V	0,983	0,126
STROMA V_{ST} cm^3	I	2,684	0,516
	II	3,228	0,512
	III	8,102	1,850
	IV	2,270	0,199
	V	3,957	0,208
ACINUS-EPITHEL V_{AC} cm^3	I	5,347	0,966
	II	11,178	2,874
	III	5,603	1,090
	IV	0,312	0,054
	V	0,508 AC 0,187 ACM	0,020 AC 0,030 ACM
LUMEN V_{AL} cm^3	I	2,536	0,385
	II	5,274	2,054
	III	13,760	6,674
	IV	0,034	0,014
	V	0,288	0,083

Tab. 11 (Fortsetzung s. nächste Seite)

KOMPARTIMENT SYMBOL EINHEIT	GRUPPE	$\bar{X}$	SE
RESTSTROMA $V_{R^{ST}}$ cm^3	I	2,420	0,098
	II	2,932	0,270
	III	7,690	2,305
	IV	2,183	0,026
	V	3,731	0,103
GLATTER MUSKEL V_{SMC} cm^3	I	0,264	0,011
	II	0,295	0,013
	III	0,412	0,060
	IV	0,052	0,006
	V	0,226	0,013
DURCHSTOSS-PUNKTE I_{AC}	I	15,510	1,111
	II	14,640	0,495
	III	6,409	0,354
	IV	4,112	0,621
	V	7,207	0,304
TUBULUS-INNENFLÄCHE $S_{VAC,P}$ cm^2/cm^3	I	198,528	14,231
	II	187,392	6,336
	III	82,035	4,531
	IV	52,634	7,949
	V	92,250	3,891
TUBULUS-INNENFLÄCHE S_{AC} cm^2	I	2097,845	290,000
	II	3687,875	120,000
	III	2253,091	510,000
	IV	135,796	20,000
	V	455,713	20,000

Tab. 11 (Fortsetzung s. nächste Seite)

KOMPARTIMENT SYMBOL EINHEIT	GRUPPE	$\bar{X}$	SE
ABSOLUTE LÄNGE DES TUBULUSSYSTEMS L_P m	I	1364,000	80,970
	II	2052,000	302,280
	III	293,600	180,180
	IV	432,300	37,690
	V	574,300	71,380
RELATIVE LÄNGE DES TUBULUSSYSTEMS L_{VP} m/cm^3	I	130,700	7,663
	II	104,270	15,360
	III	10,690	6,558
	IV	167,560	14,610
	V	116,260	14,450
RELATIVE LÄNGE DES TUBULUSSYSTEMS $L_{VAC,AC}$ m/cm^3	I	698,800	39,110
	II	1165,500	171,690
	III	59,900	36,750
	IV	52,300	4,560
	V	80,800	10,040
RADIUS r μ	I	24,400	2,313
	II	28,500	2,958
	III	112,000	31,400
	IV	5,000	0,786
	V	12,700	4,148
SPEZIFISCHES GEWICHT σ g/cm^3	I	1,367	0,015
	II	1,339	0,009
	III	1,324	0,009
	IV	1,598	0,097
	V	1,478	0,014

Tab. 11: Übersicht über die Werte der Prostatamorphometrie des beschriebenen Versuches

3.12. Statistik

Die statistische Analyse der Werte aus Tabelle 11 erfolgte mit Hilfe eines HB 66/40 - Computers der Fa. Schering in Berlin.

Zur quantitativen Untersuchung des Einflusses der Hormonbehandlungen auf die Versuchsergebnisse diente eine Varianzanalyse. Mit Hilfe des BONFERRONI-Tests, eines abgewandelten χ^2-Tests, wurden die Daten in einer Zwei-Wege-Tafel auf signifikante Unterschiede hin untersucht.

3.13. Gruppenvergleich im Hinblick auf die verschiedenen Parameter unter Berücksichtigung der Signifikanz

3.13.1. Gewichte der Prostatae

Die Abbildung 20, die die Gewichte der Prostatae vor und nach der jeweiligen Hormonbehandlung darstellt, zeigt für die unbehandelte Kontrollgruppe I eine geringfügige Gewichtszunahme von 2,5 g. Die Behandlung mit Adiol in Gruppe II ergab nach derselben Abbildung eine mittlere Zunahme von 12,8 g, was 186 % des Ausgangsgewichts entspricht. Diese Zunahme erweist sich im Vergleich mit Gruppe I als statistisch signifikant ($p < 0,05$). Eindrucksvoll ist die Gewichtszunahme bei kombinierter Behandlung mit Adiol und E_2 in Gruppe III. Hier wurde eine mittlere Gewichtszunahme von 22,1 g (entsprechend 409 %) registriert. Wegen der relativ großen Varianz sind die Unterschiede zwischen den Gruppen II und III allerdings statistisch nicht signifikant ($p > 0,1$). Im Vergleich der Prostatagewichte der Gruppen II und III mit denen der Gruppen IV und V, die zusätzlich CPA erhielten, wird eine signifikante Gewichtsabnahme in den Gruppen IV und V deutlich ($p < 0,01$ für Gruppe IV; $p < 0,02$ für Gruppe V). Parallel hierzu ergab sich in der Gegenüberstellung mit den Gruppen II und III eine Zunahme des spezifischen Gewichts von 16,4 % bei Gruppe IV und von 10 % bei Gruppe V (vgl. Abb. 21). Die Behandlung mit Adiol und CPA führte zu einem Gewichtsverlust von 2,9 g, was 53 % des Ausgangsgewichts entspricht. Die Prostatae der Hunde aus Gruppe V, die Adiol, CPA und E_2 erhielten, zeigten eine geringfügige mittlere Gewichtszunahme von 0,5 g.

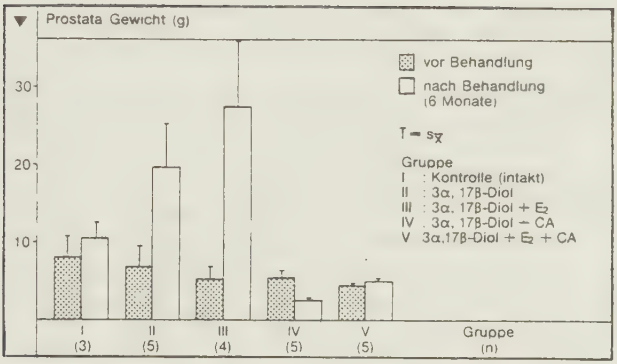


Abb. 20: Effekt von Adiol, E_2 und CPA auf das Gewicht der Prostata des kastrierten Hundes

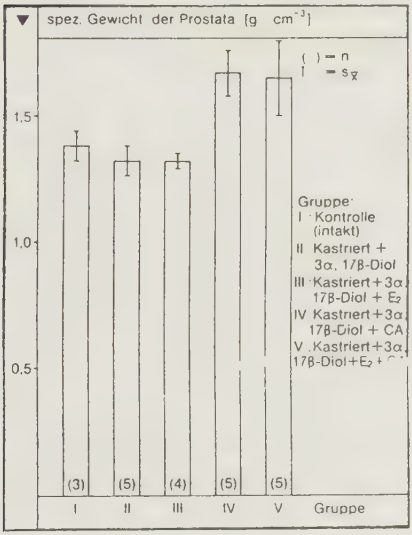


Abb. 21: Spezifisches Gewicht der Hundeprostata nach 6-monatiger Behandlung mit Adiol, E_2 und CPA

3.13.2. Volumendichten

Die Hormonbehandlungen induzierten folgende Veränderungen bezüglich der Volumendichten (vgl. Abb. 22):

- Unbehandelte Kontrollgruppe (Gruppe I):
  Die Ergebnisse der Prostatamorphometrie zeigen für diese Gruppe ein Verteilungsverhältnis von 75 % Drüsenparenchym zu 25 % Stroma. Das Drüsenepithel macht mehr als die Hälfte der gesamten Prostata aus, nämlich 51 %. Die Volumendichte der glatten Muskulatur beträgt 2,5 % vom Gesamtorgan und 9 % vom Stroma.

- Applikation von Adiol (Gruppe II):
  Die Behandlung mit Adiol führte zu einer Zunahme der Volumendichte des Acinusparenchyms von 84 %, bezogen auf die gesamte Prostata, und zu einem Absinken des stromalen Anteils auf 16 %. Diese Veränderungen sind allerdings statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$). Das interacinäre Stroma blieb durch die Kastration und die anschließende Behandlung mit Adiol unbeeinflußt. Dies geht aus der morphometrischen Analyse der Kompartimente $V_{VSMC,ST}$ und $V_{VRST,ST}$ hervor. Der statistische Vergleich mit der Kontrollgruppe ergibt eine unveränderte Relation ($p > 0,05$).

- Applikation von Adiol und E_2 (Gruppe III):
  Eine derartige Behandlung bewirkte eine grundlegende morphologische Strukturveränderung. Das gesamte Epithel wies eine massive schuppenartig geschichtete Metaplasie auf. Bezogen auf 1 cm^3 Prostatagewebe zeigt sich im Vergleich mit dem Drüsenepithel in Gruppe II eine signifikante Abnahme des metaplastischen Epithels auf 23 % ($p < 0,01$). Außerdem nahm das Drüsenlumen in Gruppe III signifikant zu ($p < 0,01$). Das Lumen macht hier mehr als die Hälfte des Volumens der Gesamtdrüse aus. Eindrucksvoll ist die signifikante Zunahme der Volumendichte der stromalen Anteile ($p < 0,01$).

- Applikation von Adiol und CPA (Gruppe IV):
  Bei dieser hormonellen Beeinflussung kam es zu einer signifikanten Verminderung der Volumendichte des Drüsenepithels auf 12 %, bezogen auf die gesamte Drüse ($p < 0,01$). Parallel hierzu wuchs das Stroma auf 88 % an, während die Volumendichte der glatten Muskelzellen,

bezogen auf 1 cm^3 Stroma, im Vergleich mit Gruppe II signifikant abnahm ($p < 0,01$).

- Applikation von Adiol, E_2 und CPA (Gruppe V):
  Für diese Gruppe beinhalten die morphometrischen Ergebnisse eine signifikante Abnahme der Volumendichte des Drüsenparenchyms im Vergleich mit den Gruppen I, II und III ($p < 0,01$). Das Drüsenepithel setzt sich aus atrophischen Zellen und Metaplasiezellen im Verhältnis 2,7 : 1 zusammen. Der Anteil der glatten Muskulatur, bezogen auf 1 cm^3 Prostatagewebe, nahm im Vergleich mit allen anderen Gruppen signifikant zu ($p < 0,01$).

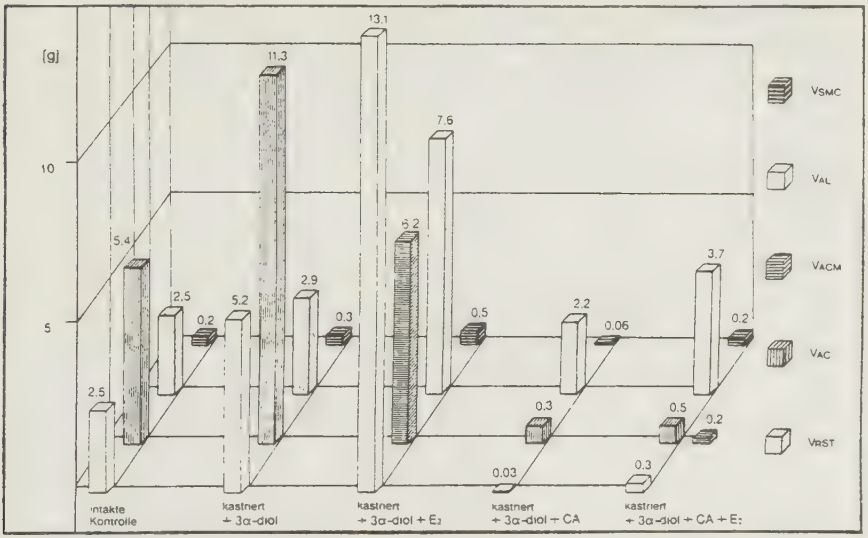


Abb. 22: Absolute Volumina der Kompartimente der Hundeprostata nach hormonaler Behandlung

3.13.3. Absolute Volumina

Die absoluten Volumina der Einzelkompartimente nach den verschiedenen Hormonbehandlungen sind in den Abbildungen 23,24 und 25 dargestellt. Die Abbildung 23 zeigt die absoluten Werte des Drüsenparenchyms. Danach bewirkte die Verabreichung von Adiol in Gruppe II eine Zunahme der Acinuszellen ohne Veränderung des Acinuszell/Lumen-Quotienten. Zu einer Beeinflussung dieses Qoutienten kam es erst durch die zusätzliche Applikation von E_2 (vgl. Gruppe III), die zu einem signifikanten Überwiegen des Lumens führte ($p < 0,05$), während das absolute Volumen der Metaplasiezellen dem der Drüsenzellen aus der unbehandelten Kontrollgruppe entspricht ($p > 0,05$). Ferner macht die Abbildung deutlich, daß CPA ein hyperplastisches Wachstum der Prostatae in den Gruppen IV und V durch eine signifikante Verringerung des Drüsenparenchyms verhütete ($p < 0,05$).

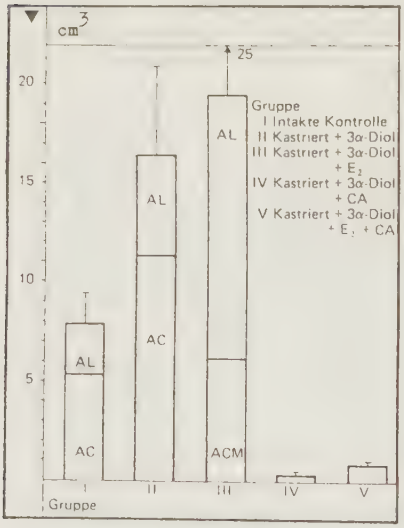


Abb. 23: Absolute Volumina des acinären Parenchyms der Hundeprostata nach Behandlung mit Adiol, E_2 und CPA

Die Abbildung 24 zeigt die absoluten Volumina des Stromas. Das eindrucksvollste Resultat nach kombinierter Behandlung mit Adiol und E_2 ist die signifikante Zunahme des absoluten Volumens des stromalen Kompartiments bei Gruppe III im Vergleich mit den übrigen Gruppen ($p < 0,05$). Die Verabreichung von CPA und E_2 in der mit Adiol behandelten Gruppe V verminderte eindeutig den stromalen Anteil ($p < 0,05$). Im Gegensatz zu diesem Ergebnis wiesen die absoluten Anteile der glatten Muskelzellen in den Gruppen II und V keine signifikante Veränderung auf ($p > 0,05$).

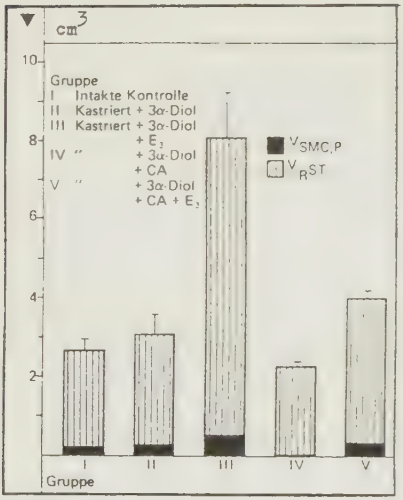


Abb. 24: Absolute Volumina der stromalen Kompartimente der Hundeprostata nach Behandlung mit Adiol, E_2 und CPA

Ferner bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen den absoluten stromalen Volumenanteilen der Gruppen I,II und IV ($p > 0,05$). Die weitere Unterteilung des Stromakompartiments zeigt, daß der Volumenanteil der glatten Muskelzellen von Gruppe IV im Vergleich mit den Gruppen I,II und V 3- bis 5mal und im Vergleich mit Gruppe III nahezu 7mal geringer ist ($p < 0,05$ / vgl. Abb. 25).

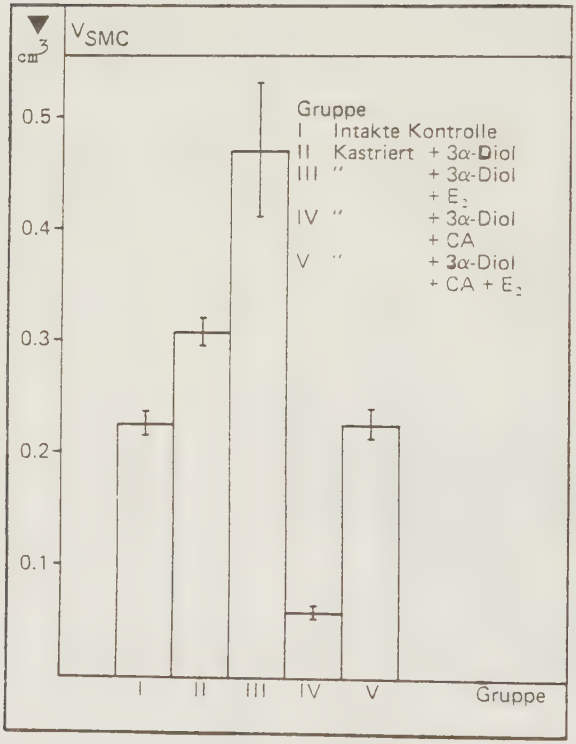


Abb. 25: Absolute Volumina der glatten Muskulatur der mit Adiol, E_2 und CPA behandelten Hunde

3.13.4. Oberfläche, Länge und Durchmesser des Drüsensystems

3.13.4.1. Oberfläche

Die Untersuchungsergebnisse zeigen, daß die absolute Oberfläche bei den Gruppen IV und V, die CPA erhielten, im Vergleich mit den übrigen Gruppen signifikant verringert ist ($p < 0,01$). Sie beträgt bei der Gruppe IV nur 4 % der kastrierten und mit Adiol behandelten Gruppe II (vgl. Abb. 26). Vergleicht man Gruppe IV mit Gruppe V, die zusätzlich E_2 erhielt, so läßt sich eine signifikante, nämlich ca.3mal größere Zunahme der absoluten Oberfläche feststellen ($p < 0,01$).

Dagegen ist, wie die Abbildung 27 demonstriert, die Oberfläche pro cm^3 Prostatagewebe bei Gruppe III, der neben Adiol zusätzlich E_2 appliziert wurde, im Vergleich mit der Kontrollgruppe und der nur mit Adiol behandelten Gruppe II signifikant, und zwar auf mehr als die Hälfte, verringert ($p < 0,01$). Gruppe V zeigt hier wie bei den absoluten Oberflächen eine signifikante Zunahme gegenüber Gruppe IV ($p < 0,05$). Ein Unterschied zwischen den Gruppen III und V ist dagegen nicht nachweisbar ($p > 0,05$).

Bemerkenswert ist, daß die Oberfläche pro cm^3 Drüsenepithel bei den Gruppen I und II im Vergleich mit Gruppe V signifikant vergrößert, nämlich mehr als verdoppelt ist ($p < 0,01$). In der Gegenüberstellung der Gruppen III, IV und V läßt sich kein signifikanter Unterschied nachweisen ($p > 0,05$).

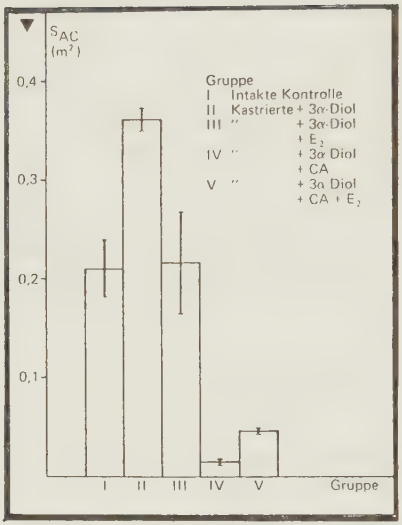


Abb. 26: Absolute Oberfläche des Drüsenparenchyms der mit Adiol, E_2 und CPA behandelten kastrierten Hunde

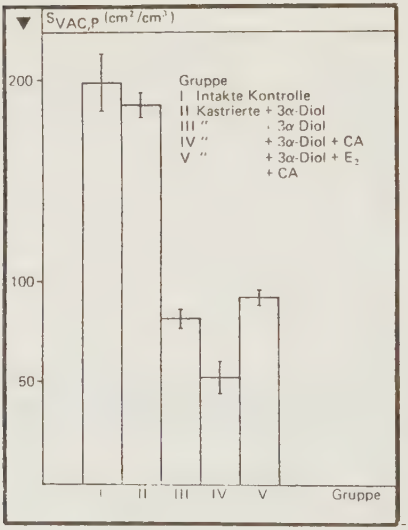


Abb. 27: Oberflächendichte des Drüsenparenchyms (Bezugssystem: 1 cm^3 Prostata) der mit Adiol, E_2 und CPA behandelten kastrierten Hunde

3.13.4.2. Länge

Wie die Abbildung 29 demonstriert (vgl. Abschnitt 3.13.4.4.), zeigen die Gruppen III, IV und V im Vergleich mit der unbehandelten Kontrollgruppe sowie der kastrierten und mit Adiol behandelten Gruppe II eine signifikante Verkürzung der absoluten Länge L_p des Drüsensystems ($p < 0,05$). Die absolute Länge in der Gruppe III macht nur 14 % der Länge in Gruppe II aus. Die kombinierte Applikation von Adiol und E_2 bewirkte eine zystische Transformation des Drüsensystems. Deshalb ist die Länge des Drüsensystems pro cm^3 Prostatagewebe bei Gruppe III ebenfalls gegenüber allen anderen Gruppen signifikant verkürzt, der Radius dagegen stark vergrößert ($p < 0,01$). Die Behandlung mit CPA in den Gruppen IV und V führte zu einer signifikanten Abnahme der Länge pro cm^3 Drüsenepithel gegenüber den Gruppen I und II ($p < 0,05$).

3.13.4.3. Durchmesser

Die alleinige Verabreichung von Adiol und CPA in Gruppe IV bewirkte gegenüber den Gruppen I, II und III eine signifikante Abnahme des Durchmessers des Drüsensystems ($p < 0,05$). Er macht nur 1/5 bis 1/6 des Durchmessers der Gruppen I und II und sogar nur 1/24 desjenigen der Gruppe III aus. Die zusätzliche Behandlung mit E_2 in der Gruppe III führte zu einer immensen Zunahme des Durchmessers im Vergleich mit allen anderen Gruppen ($p < 0,05$). Er ist gegenüber dem der Gruppen I und II 4- bis 5fach und gegenüber dem der mit CPA behandelten Gruppen IV und V sogar 10- bis 24fach vergrößert.

3.13.5. Übersicht über die ein-, zwei- und dreidimensionalen Parameter der Hundeprostata

Eine zusammenfassende Übersicht über die oben diskutierten Volumina, Oberflächen, Längen und Durchmesser geben die Abbildungen 28 und 29.

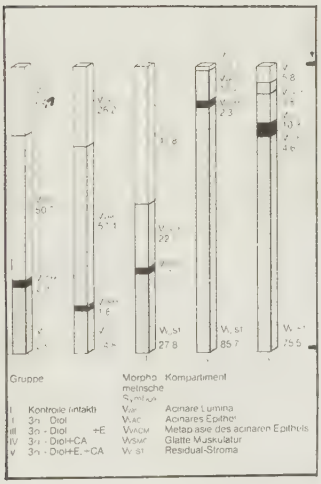


Abb. 28 a: Volumendichten der Prostatakompartimente im Referenzsystem Gesamtprostata (= 100 %) bei kastrierten Hunden nach sechsmonatiger Behandlung mit Adiol, E_2 und CPA

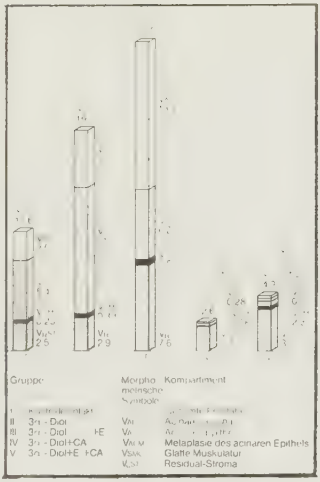


Abb. 28 b: Absolutgewichte der Prostatakompartimente kastrierter Hunde nach sechsmonatiger Behandlung mit Adiol, E_2 und CPA

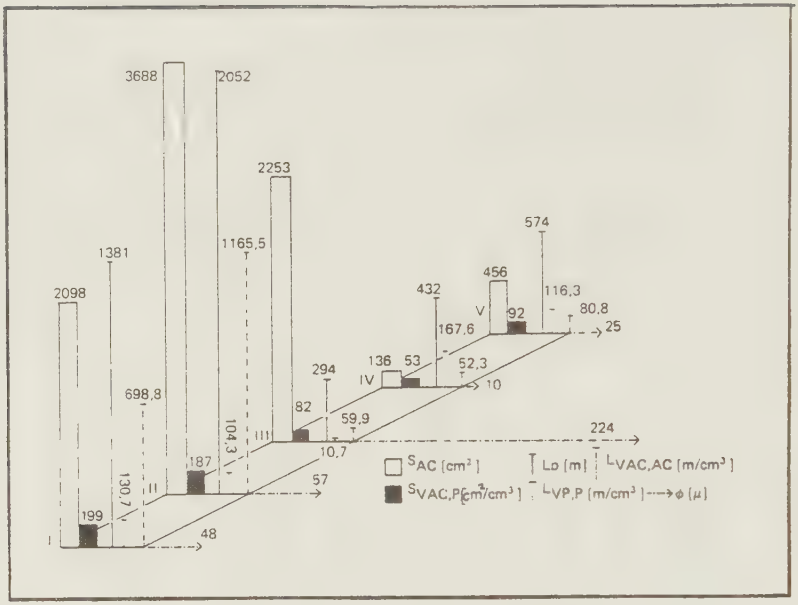


Abb. 29: Relative und absolute Daten des Tubulussystems der Hundeprostata unter hormonalen Einflüssen

3.14. Zusammenfassendes Flußdiagramm des Versuchsablaufs und seiner Auswertung

Zur Erleichterung des Überblicks über die bisherigen Verfahrensweisen werden der Versuchsablauf und dessen Auswertung bis einschließlich der Erstellung der Graphik in Form eines Flußdiagramms festgehalten:

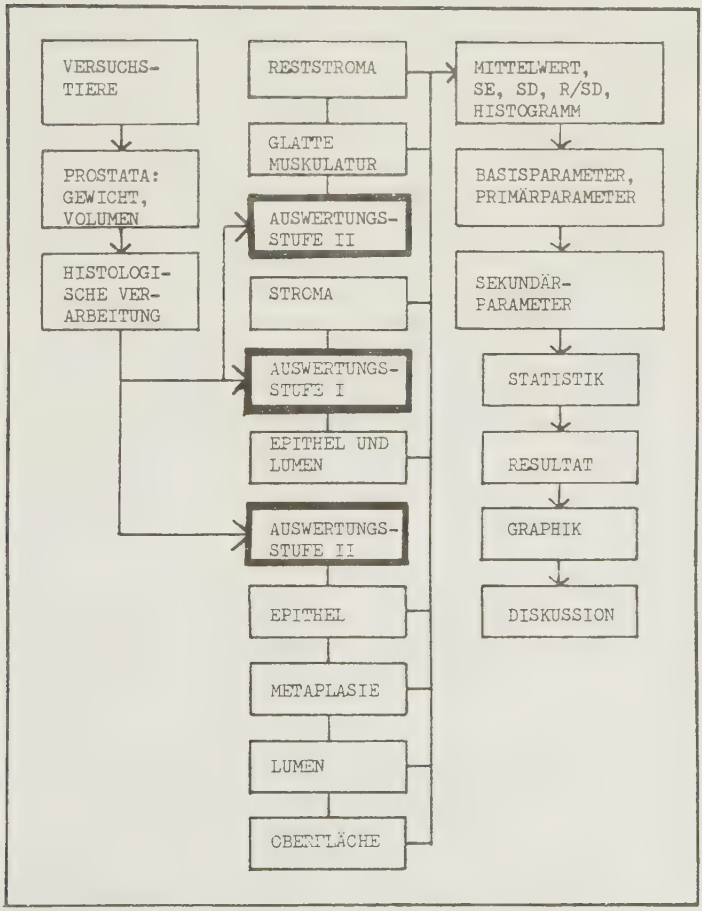


Abb. 30: Flußdiagramm über den Versuchsablauf und seine Auswertung

Die letzte Station des Flußdiagramms weist bereits auf den nächsten Abschnitt, die Diskussion, hin.

4. DISKUSSION

4.1. Pathogenese der benignen Prostatahyperplasie und Erstellung eines tierexperimentellen Modells

50 % aller Männer über 50 Jahre leiden an einem Prostataadenom. Die benigne Prostatahyperplasie (BPH) stellt einen der häufigsten gutartigen Tumoren des Mannes dar (ALTWEIN 1979).

Eine ausschlaggebende Bedeutung für die Pathogenese des Adenoms besitzt das Dihydrotestosteron (DHT), die biologisch aktivste Form des Testosterons, die durch Reduktion mittels 5 α-Reductase entsteht. Die Relevanz des DHT beweisen Untersuchungen an Adenomen, die im Vergleich zu gesunden Prostatae eine 5fach stärkere Konzentration dieses Hormons ausschließlich in der Innendrüse aufweisen (SENGE u.a. 1980). Ferner finden wir hier eine signifikante Erhöhung des Androstandiols, das sowohl ein Abbauprodukt des DHT darstellt als auch vom Hoden sezerniert wird. Zusätzlich spielt in der Pathogenese der BPH mit zunehmendem Alter die Verschiebung des Verhältnisses zwischen Androgenen und Östrogenen eine Rolle, weil der relativ höhere Östrogenanteil die innere Drüsenzone der Prostata zum Wachstum anregt.

Auf dieser hormonkinetischen Grundlage wurden zwei BPH-Modelle entwickelt:

- BPH-Modell I: Entstehung einer BPH durch ausschließliche Beeinflussung mittels Adiol
- BPH-Modell II: Entstehung einer BPH durch Applikation von Adiol und E_2

Wegen der erforderlichen umfangreichen morphometrischen und biochemischen Analytik in der Grundlagenforschung ist die Durchführung entsprechender Versuche nur am Tier, und zwar hier am Hund (vgl. Abschnitt 4.2.), möglich. Die Wertigkeit eines Modells der experimentell erzeugten BPH wird nicht allein durch eine Imitation aller spezifischen morphologischen Charakteristika dieser Erkrankung beim Menschen bestimmt, sondern man nimmt nur ähnliche endokrinolo-

gische Reaktionen der einzelnen Organkompartimente bei Mensch und Hund an (WILSON 1975). Daher kommt bei unterschiedlichen Ausgangsbefunden in der Morphologie der BPH von Mensch und Hund der quantitativen hormonalen Beeinflussung der einzelnen Prostatakompartimente eine besondere Bedeutung zu.

Analogieschlüsse sind allerdings nur mit Einschränkung möglich. In der mikroskopischen Anatomie finden wir zwar ansatzweise eine Homologie zwischen einigen Spezies, einschließlich des Menschen, nämlich insofern, als sie sich hinsichtlich des Prototyps der sezernierenden Prostatazelle morphologisch nur geringfügig voneinander unterscheiden; aber bereits die Tatsache der unterschiedlichen Reaktionsmuster im Alter und im Experiment verdeutlicht die Problematik eines Analogieschlusses zwischen der BPH des Hundes und der des Menschen (RICHTER 1975). Um die Übertragbarkeit der im Tierversuch gewonnenen Resultate zu beurteilen, ist eine sorgfältige Analyse von Ähnlichkeiten und Unterschieden der bei Mensch und Tier zu untersuchenden und zu vergleichenden Strukturen und Funktionen erforderlich.

4.2. Vergleich zwischen den Prostatae von Menschen, Hunden und Ratten

Eine spontane altersabhängige BPH-Entwicklung, die umgekehrt proportional zur Testesfunktion mit hoher Inzidenz auftritt, finden wir unter den freilebenden Tieren bei Löwen und - mit einigen Einschränkungen (s.u.) - bei Ratten sowie unter den Haustieren lediglich bei Hunden (RICHTER 1975, NEUMANN u.a. 1980). Die Prostata zeigt bei diesen Spezies wie beim Menschen unter geriatrischen Bedingungen eine 2- bis 10fache Größenzunahme. Die DHT-Konzentration ist ebenfalls um das 5fache erhöht.

BPH-Vergleich
Mensch–Hund Ähnlichkeiten
1. Spontane Entwicklung
2. Altersabhängigkeit
3. Testesabhängigkeit
4. Hohe Inzidenz
5. 2- bis 10fache Größenzunahme
6. 5fach erhöhte DHT-Konzentration im Prostatagewebe bei unverändertem Testosteron-Gehalt

Abb. 31: Ähnlichkeiten der BPH bei Mensch und Hund

Allerdings sind die Prostatae von Mensch und Hund nicht unter allen morphologischen Aspekten vergleichbar. Während sich beim Hund lediglich eine glanduläre Proliferation der periurethralen Drüsenelemente entwickelt, die sich in Form von Obstipation auswirkt, tauchen beim Menschen eine glanduläre und/oder eine stromale Proliferation auf, die die klinische Symptomatik einer Blasenhalsobstruktion hervorruft. Ferner findet man beim Menschen eine noduläre multizentrische Epithel- und Stromaproliferation, beim Hund dagegen eine diffuse und/oder zystische, jedoch rein glanduläre Proliferation.

BPH-Vergleich
Mensch (M) – Hund (H) Unterschiede
1. Histologie M: Glanduläre und/oder stromale Proliferation H: Glanduläre Proliferation
2. Aufbau M: Nodulär H: Diffus und/oder cystisch
3. Symptome M: Blasenentleerungsstörung H: Obstipation

Abb. 32: Unterschiede der BPH bei Mensch und Hund

Bezogen auf die lichtmikroskopischen Ergebnisse ergibt die morphometrische Untersuchung einer gesunden Hundeprostata im Vergleich mit der Prostata eines gesunden jungen Mannes eine fast völlige Übereinstimmung (BARTSCH/ROHR 1979). Die Prostata der Ratte hingegen zeigt einen andersartigen Aufbau (BARTSCH 1977). Sie stimmt zwar bezüglich des stromalen Kompartiments mit der des Hundes und der des Menschen überein, weist jedoch einen um mehr als die Hälfte geringeren Anteil an Acinusepithel auf (vgl. Abb. 33).

Unter Berücksichtigung der aufgezeigten Aspekte erweist sich der Beagle-Rüde als Versuchstier zur Klärung von Problemen in der Ätiopathogenese der BPH als geeignet (WALSH 1975).

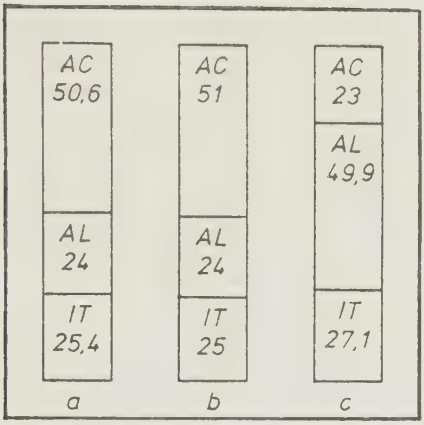


Abb. 33: Volumendichte der Prostatakompartimente AC, AL und IT im Referenzsystem Gesamtprostata (≙ 100 %):
a) Prostata des gesunden Hundes
b) Prostata des gesunden jungen Mannes
c) Prostata der gesunden Ratte

4.3. Vergleich der BPH-Modelle nach Induktion mit Androgenen und Östrogenen

Zur quantitativen Erfassung des Einflusses von Steroidhormonen auf die verschiedenen Prostatakompartimente ist bei der Interpretation lichtmikroskopisch-morphometrischer Ergebnisse eine Unterscheidung zwischen absoluten Volumendichten (Anteil eines Kompartiments am Gesamtorgan) und relativen Werten (prozentualer Anteil eines Kompartiments an einem Referenzvolumen) erforderlich.

Die Absolutwerte spiegeln den Einfluß der Hormone auf den Drüsenanteil und den stromalen Anteil der Prostata wider. Die relativen Volumendichten quantifizieren dagegen morphologisch beschreibbare Befunde und zeigen somit induzierte Relativveränderungen der Kompartimente in einem Referenzsystem an.

Unter Berücksichtigung dieser Voraussetzungen lassen sich die beiden oben vorgestellten BPH-Modelle folgendermaßen beurteilen (vgl. Abschnitt 4.1.):

- BPH-Modell I: Die alleinige Verabreichung von Adiol bewirkt eine Zunahme der absoluten Volumina aller Prostatakompartimente ohne signifikante Verschiebungen der relativen Volumendichten im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die Tubulusinnenflächen und Längen des Drüsensystems verändern sich in gleichem Maße. Dies entspricht einer spontan auftretenden glandulären Hyperplasie.
- BPH-Modell II: Die kombinierte Applikation von Adiol und E_2 induziert eine Zunahme des relativen und absoluten Anteils, die bei den absoluten Volumina besonders deutlich wird. Das Drüsenepithel ist metaplastisch umgewandelt, was mit einer absoluten und relativen Zunahme des Lumens einhergeht. Die Lumina sind zystisch erweitert. Dies wird mathematisch an der geringen Vergrößerung der absoluten Oberfläche sowie der Reduktion der relativen Oberfläche um 59 % im Vergleich zur Kontrollgruppe erkennbar. Dementsprechend verringern sich auch die absoluten und relativen Längen des Drüsensystems außerordentlich, wohingegen der Durchmesser auf das 5fache ansteigt. Die genannten Veränderungen sind auf das relative Überwiegen der Östrogene zurückzuführen. Ähnliche

Vorgänge finden wir auch bei Östrogen-produzierenden Sertolli-Zell-Tumoren.

Eine zusammenfassende Übersicht über die obigen Ausführungen bieten die Abbildungen 34,35,36 und 37.

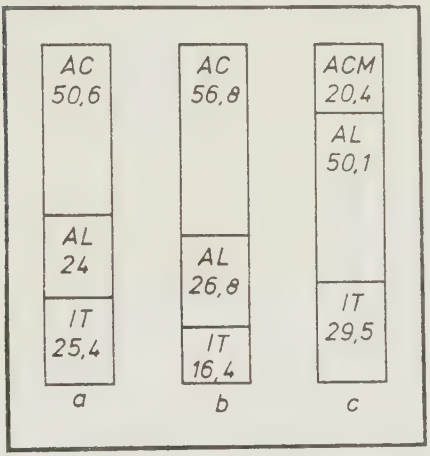


Abb. 34: Volumendichte der Prostatakompartimente
AC, AL und IT im Referenzsystem Gesamtprostata (≙ 100 %)
a) Kontrollgruppe
b) BPH-Modell I
c) BPH-Modell II

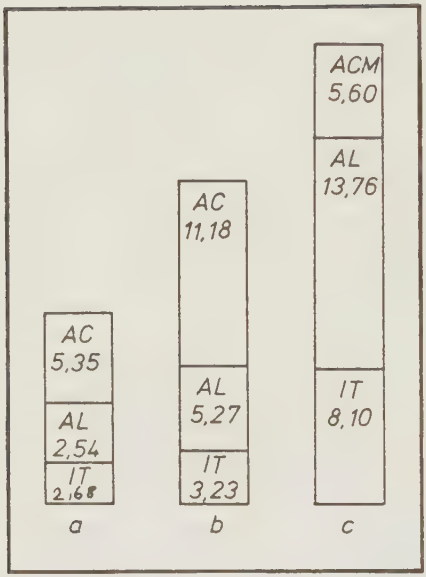


Abb. 35: Zunahme der absoluten Volumina infolge Androgen- bzw. Androgen/Östrogenwirkung (Angaben in cm^3):
a) Kontrollgruppe
b) BPH-Modell I
c) BPH-Modell II

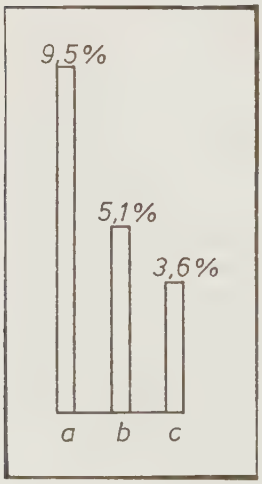


Abb. 36: Prozentuale Anteile der Oberfläche pro cm^3 Prostata:
a) Kontrollgruppe
b) BPH-Modell I
c) BPH-Modell II

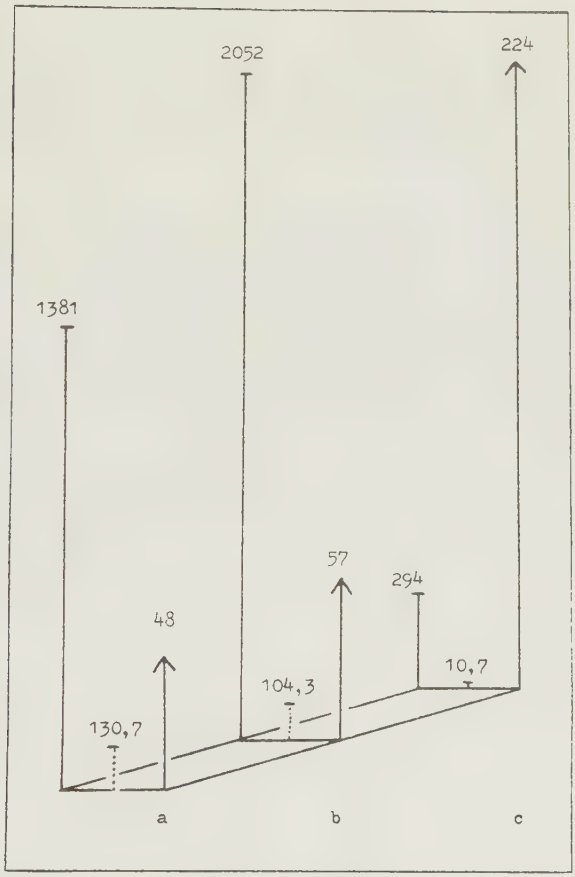


Abb. 37: Absolute und relative Länge sowie Durchmesser des Tubulussystems der Hundeprostata
a) Kontrollgruppe
b) BPH-Modell I
c) BPH-Modell II

absolute Länge L_p (m)

relative Länge $L_{VP,P}$ (m)

Durchmesser (μ)

4.4. Auswirkungen des Antiandrogens Cyproteronacetat (CPA) auf die in den BPH-Modellen beschriebenen Volumendichten und Daten des Tubulussystems

Bei der simultanen, gleichsam prophylaktischen Gabe von CPA zeigen die absoluten Volumina in beiden BPH-Modellen eine signifikante Abnahme (vgl. Abb. 38). Die lichtmikroskopisch sichtbare und morphometrisch erfaßbare Atrophie des Drüsenparenchyms weist deutlich auf den antiandrogenen Effekt hin. Die absolute Tubulusinnenfläche und der Durchmesser des Drüsensystems sind verringert, wohingegen die relative Länge der Drüsenschläuche nur unwesentlich beeinflußt wird (vgl. Abb. 39 bis 44).

Der prozentuale Anteil der Tubulusinnenfläche nimmt bei Applikation von CPA im BPH-Modell I auf das 4fache und im BPH-Modell II auf das Doppelte zu (vgl. Abb. 41).

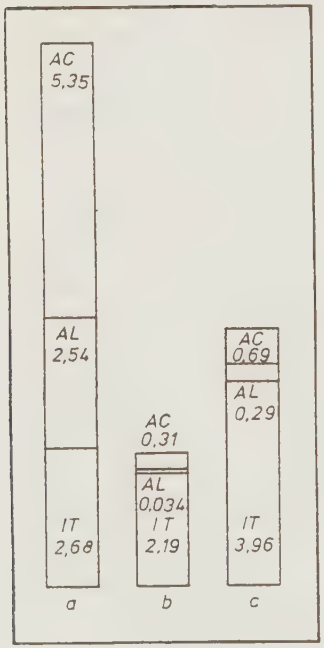


Abb. 38: Absolute Volumina der Prostata (Angaben in cm^3)
a) Kontrollgruppe
b) BPH-Modell I unter CPA-Einfluß
c) BPH-Modell II unter CPA-Einfluß

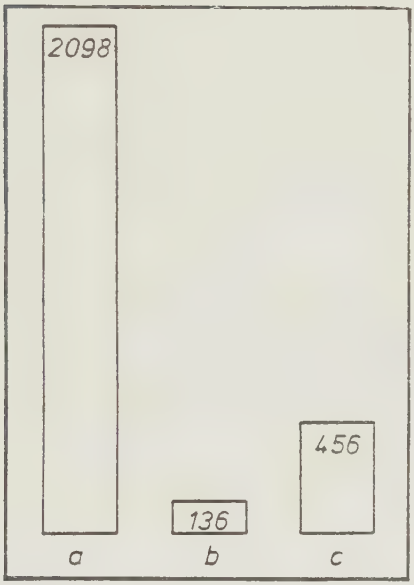


Abb. 39: Absolute Tubulus-innenfläche (Angaben in cm^2)
a) Kontrollgruppe
b) BPH-Modell I unter Einfluß von CPA
c) BPH-Modell II unter Einfluß von CPA

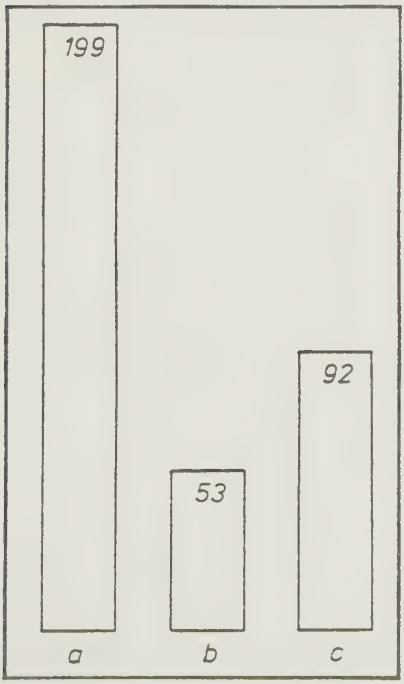


Abb. 40: Relative Tubulus-innenfläche (Angaben in cm^2/cm^3)
a) Kontrollgruppe
b) BPH-Modell I unter Einfluß von CPA
c) BPH-Modell II unter Einfluß von CPA

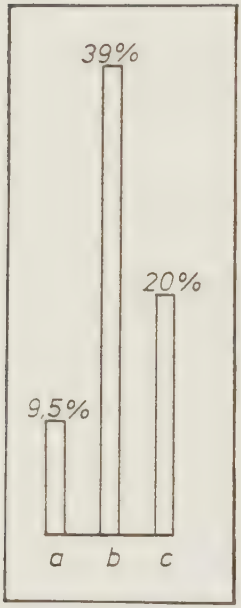


Abb. 41: Prozentuale Anteile der Tubulusinnenfläche pro cm³ Prostata
a) Kontrollgruppe
b) BPH-Modell I unter Einfluß von CPA
c) BPH-Modell II unter Einfluß von CPA

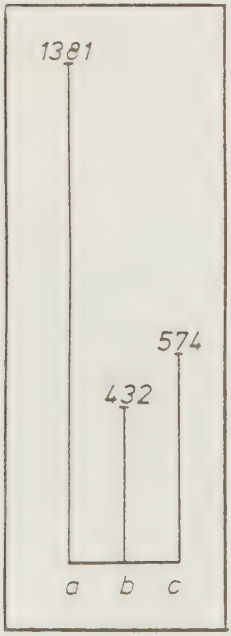


Abb. 42: Absolute Länge der Tubuli
(Angaben in m)
a) Kontrollgruppe
b) BPH-Modell I unter Einfluß von CPA
c) BPH-Modell II unter Einfluß von CPA

Abb. 43: Relative Länge der Tubuli pro cm^2 Prostata (Angaben in m)
a) Kontrollgruppe
b) BPH-Modell I unter Einfluß von CPA
c) BPH-Modell II unter Einfluß von CPA

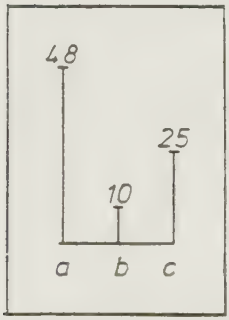


Abb. 44: Durchmesser des Einzeltubulus (Angaben in µ)
a) Kontrollgruppe
b) BPH-Modell I unter Einfluß von CPA
c) BPH-Modell II unter Einfluß von CPA

Betrachten wir das Stroma isoliert, so stellen wir eine durch Adiol hervorgerufene Hyperplasie fest, die durch die Gabe von E_2 noch potenziert wird. Eine Blockade des androgenen Effekts durch CPA bewirkt eine signifikante Abnahme der Volumendichte der glatten Muskulatur beim BPH-Modell I im Referenzsystem Gesamtprostata.

Beim BPH-Modell II, das von einer kombinierten Behandlung mit Adiol und E_2 ausgeht, findet sich nach Applikation von CPA allerdings eine signifikante Zunahme der glatten Muskulatur. Dies verdeutlicht die alleinige antiandrogene Wirkung des CPA und zeigt außerdem die stimulierende Wirkung der Östrogene auf die glatte Muskulatur (vgl. Abb. 45).

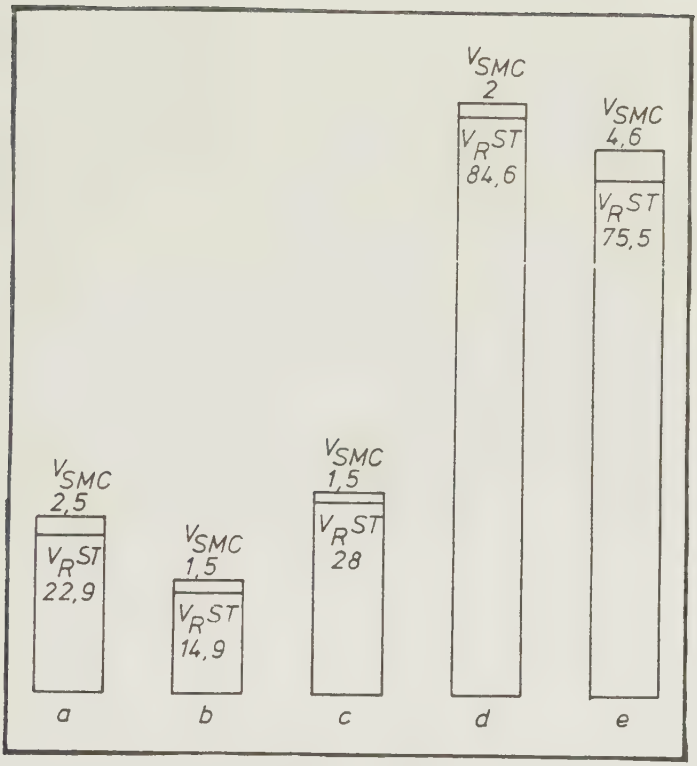


Abb. 45: Volumendichte der Prostatakompartimente V_{VSMC} und $V_{V_R ST}$ im Referenzsystem Gesamtprostata (≙ 100 %)
a) Kontrollgruppe
b) BPH-Modell I
c) BPH-Modell II
d) BPH-Modell I unter Einfluß von CPA
e) BPH-Modell II unter Einfluß von CPA

Letztere Überlegung ist insofern von Bedeutung, als der aktivierte glatte Muskel eine "Schlüsselrolle" (ROHR) bei der Entstehung der BPH spielt, weil er in der Lage ist, Collagen, elastische Fasern und Mucopolysaccharide zu produzieren, was elektronenmikroskopische Befunde bei der menschlichen Prostata belegen (BARTSCH/ROHR 1979).

Vergleicht man unter Berücksichtigung dieser Feststellungen die beiden BPH-Modelle mit der BPH des Menschen, so fällt bei letzterer der hohe Anteil der glatten Muskulatur auf, was ebenfalls auf die Bedeutung dieses Kompartiments für die Ätiopathogenese der BPH hinweist (ROHR 1979, TUNN u.a. 1981 / vgl. Abb. 46).

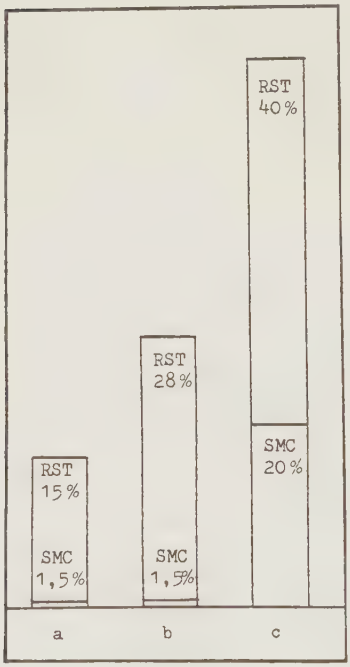


Abb. 46: Volumendichte der Prostatakompartimente RST und SMC im Referenzsystem Gesamtprostata (≙ 100 %)
a) BPH-Modell I
b) BPH-Modell II
c) BPH beim Menschen

4.5. Schlußbemerkung und Ausblick

Pathobiologische Vorgänge induzieren gewöhnlich nicht die Entstehung neuer differenzierter Funktionen und Strukturen, sondern führen zu einfachen quantitativen Veränderungen (Zu- oder Abnahmen) bestehender Kompartimente. Die Methode der Morphometrie erlaubt es, Wirkungen verschiedener Substanzen getrennt nach Kompartimenten zu untersuchen. Damit trägt die Morphometrie zu einem besseren Verständnis von Zellreaktionsmustern bei physiologischen und pathologischen Organveränderungen bei.

In Fortführung der vorliegenden Arbeit bietet sich die Untersuchung der Effekte von Antiöstrogenen und Antiöstrogen-Cyproteronacetat-Kombinationen auf der Basis der Morphometrie an. Außerdem wäre es aufschlußreich, das CPA, dessen prophylaktische Wirkung hier ermittelt wurde, in seinem therapeutischen Effekt auf die BPH zu erfassen.

5. Zusammenfassung

Die Ausführungen zum vorliegenden Thema konzentrierten sich auf eine grundlegende Darstellung einer reproduzierbaren morphometrischen Methodik, deren Anwendbarkeit anschließend am Modell der Hundeprostata beschrieben und überprüft wurde.

In den theoretischen Erörterungen ging es nach einem Abriß geschichtlicher Aspekte zur quantitativen Bildauswertung um die mathematischen Voraussetzungen der Morphometrie (Untersuchungsmethode auf der Basis geometrischer Wahrscheinlichkeit) und der Stereologie (Lehre von den mathematischen Beziehungen zwischen Form und Verteilung beliebiger Strukturen im Raum) zur Rekonstruktion n-dimensionaler Objekte aus (n-1)dimensionalen Strukturen. Auf diesen Grundlagen fußte die Methodik zur quantitativen Auswertung beliebiger Schnittpräparate, wobei die Beschreibung biologischer Strukturen besondere Berücksichtigung fand. Dazu erwies sich die zusätzliche Erstellung eines Modells zur Oberflächen-, Längen- und Durchmesserberechnung von Drüsentubuli mit Hilfe morphometrischer Daten als hilfreich. Weitere methodische Schritte stellten die Stichprobenentnahme sowie die statistische Verarbeitung morphometrischer Parameter dar.

Der beispielhaften Darstellung und Überprüfung dieser Verfahren diente das lichtmikroskopische Modell der Hundeprostata (Versuchstiere: Beagle-Rüden), wobei das Verhalten der Prostatakompartimente unter definierten hormonellen Einflüssen untersucht wurde. Im Vordergrund standen die Beschreibung von 2 tierexperimentellen Modellen der benignen Prostatahyperplasie (BPH) sowie die quantitative Erfassung der Wirkung des Antiandrogens Cyproteronacetat (CPA). Die grundlegenden Überlegungen und Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen: Im Modell I entwickelt sich eine BPH unter dem Einfluß von 3-α-Androstandiol (Adiol), wobei das Prostatagewicht durch Proliferation des Drüsenepithels infolge Androgenwirkung ansteigt. Modell II geht von einer kombinierten Verabreichung von Adiol und dem Östrogen 17-β-Östradiol (E_2) aus, die eine Zunahme der Drüsenlumina und damit des Absolutgewichts, squamöse Epithelmetaplasien bei gleichzeitiger Reduktion der Volumendichte des Drüsenepithels sowie eine stromale Hyperplasie mit Aktivierung der glatten Muskulatur bewirkte. CPA ver-

hinderte in beiden Modellen die Entstehung der Prostatahyperplasie durch eine signifikante absolute und relative Verringerung des Drüsenparenchyms. Zusätzlich wurden beim BPH-Modell II aufgrund der Behandlung mit CPA folgende Veränderungen registriert:

- eine signifikante Zunahme der relativen Volumendichten der glatten Muskulatur,
- eine metaplastische Umformung bei etwa einem Drittel des atrophischen Epithels sowie
- eine Verringerung der Absolutgewichte der stromalen Prostatakompartimente.

Es ergeben sich folgende prinzipielle Schlußfolgerungen:

1. Adiol induziert eine Proliferation des Drüsenepithels und potenziert die durch Östrogen bewirkte stromale Stimulation. Dementsprechend fanden sich die höchsten Absolutwerte für die glatte Muskulatur beim BPH-Modell II (Applikation von Adiol und E_2), was auf die Bedeutung dieses Kompartiments für die Ätiopathogenese der BPH hinweist.
2. Durch CPA ist eine selektive Blockade der Androgenwirkung auf Epithel und Stroma und damit die Hemmung einer Proliferation möglich, wobei der atrophisierende Effekt auf das Epithel überwiegt.

AUSWERTUNGS-STUFE I GRUPPE I	$V_{VAP,P}$	$V_{VBT,P}$	I_P	I_{AP}	$I_{...}$
HUND 1	0,748	0,237	9,1	6,283	2,...
HUND 6	0,746	0,234	10,6	10,332	3,7...
HUND 3	0,753	0,233	8,7	6,183	2,...
HUND					
HUND					
MITTELWERT	0,746	0,235	10,567	7,883	2,675
MEDIAN	0,746	0,234	8,7	6,183	2,...
SE	0,001	0,001	2,019	1,524	0,...
S/SD	1,964	1,922	1,773	1,763	1,...
NORMAL-VERTEILUNG +/-	+	+	+	+	+

ANFANG

AUSWERTUNGS-STUFE I GRUPPE II	$V_{VAP,P}$	$V_{VST,P}$	V_P	V_{AP}	V_{ST}
HUND 2	0,840	0,160	18,4	15,456	2,926
HUND 7	0,829	0,171	14,2	11,772	2,428
HUND 8	0,818	0,182	11,2	9,161	2,038
HUND 15	0,810	0,190	12,9	10,449	2,451
HUND 20	0,882	0,118	41,7	36,779	4,921
MITTELWERT	0,836	0,164	19,68	16,452	3,228
MEDIAN	0,82	0,171	14,2	11,772	2,451
SE	0,013	0,013	5,632	5,123	0,512
R/SD	2,553	2,550	2,422	2,411	2,519
NORMAL-VERTEILUNG +/-	+	+	+	+	+

AUSWERTUNGS-STUFE I GRUPPE III	$V_{VAP,P}$	$V_{VST,P}$	V_P	V_{AP}	V_{ST}
HUND 3	0,577	0,423	23,2	13,386	9,814
HUND 9	0,742	0,258	21,6	16,027	5,573
HUND 10	0,726	0,274	13,4	9,728	3,631
HUND 21	0,774	0,226	51,7	40,016	11,684
HUND					
MITTELWERT	0,705	0,295	27,475	19,370	8,105
MEDIAN	0,734	0,265	22,4	14,707	7,694
SE	0,004	0,004	8,355	6,865	1,850
R/SD	2,52	2,246	2,292	2,206	2,167
NORMAL-VERTEILUNG +/-	+	+	+	+	+

AUSWERTUNGS-STUFE I GRUPPE IV	$V_{VAP,P}$	$V_{VST,P}$	V_P	V_{AP}	V_{ST}
HUND 4	0,104	0,895	2,4	0,249	2,148
HUND 11	0,122	0,875	3,3	0,403	2,888
HUND 12	0,113	0,885	2,0	0,226	1,770
HUND 17	0,129	0,873	2,	0,374	2,532
HUND 22	0,133	0,867	2,3	0,306	1,994
MITTELWERT	0,120	0,879	2,58	0,312	2,268
MEDIAN	0,122	0,875	2,4	0,306	2,148
SE	0,005	0,005	0,231	0,034	0,190
R/SD	2,454	2,535	2,516	2,308	2,513
NORMAL-VERTEILUNG +/-	+	+	+	+	+

AUSWERTUNGS-STUFE I GRUPPE V	$V_{VAP,P}$	$V_{VST,P}$	V_P	V_{AP}	V_{ST}
HUND 5	0,174	0,827	5,4	0,940	4,466
HUND 13	0,203	0,797	5,0	1,015	3,985
HUND 14	0,173	0,822	5,1	0,882	4,192
HUND 18	0,270	0,720	5,3	1,431	3,816
HUND 23	0,177	0,823	3,9	0,690	3,210
MITTELWERT	0,199	0,796	4,94	1,191	3,932
MEDIAN	0,177	0,820	5,1	0,940	3,985
SE	0,018	0,020	0,269	0,126	0,208
R/SD	2,346	2,339	2,490	2,639	2,651
NORMAL-VERTEILUNG +/-	+	+	+	+	+

AUSWERTUNGS-STUFE II GRUPPE I	$V_{VAC,P}$	$V_{VAL,P}$	$V_{V_RST,P}$	$V_{VSMC,P}$	
HUND 1	0,450	0,268	0,257	0,028	
HUND 6	0,478	0,212	0,284	0,025	
HUND 19	0,520	0,206	0,249	0,024	
HUND					
HUND					
MITTELWERT	0,483	0,229	0,251	0,024	
MEDIAN	0,478	0,212	0,249	0,024	
SE	0,020	0,020	0,003	0,002	
R/SD	1,987	1,813	1,824	2,000	
NORMAL-VERTEILUNG +/-	+	+	+	+	

AUSWERTUNGS-STUFE II GRUPPE II	$V_{VAC,P}$	$V_{VAL,P}$	$V_{V_RST,P}$	$V_{VSMC,P}$	
HUND 2	0,552	0,238	0,189	0,022	
HUND 7	0,531	0,237	0,213	0,018	
HUND 8	0,483	0,238	0,255	0,023	
HUND 15	0,593	0,189	0,199	0,020	
HUND 20	0,517	0,320	0,141	0,019	
MITTELWERT	0,535	0,253	0,199	0,020	
MEDIAN	0,531	0,238	0,199	0,020	
SE	0,018	0,022	0,019	0,001	
R/SD	2,695	2,625	2,766	2,411	
NORMAL-VERTEILUNG +/-	+	+	+	+	

AUSWERTUNGS-STUFE II GRUPPE III	$V_{VACM,P}$	$V_{VAL,P}$	$V_{V_RST,P}$	$V_{VSMC,P}$	
HUND 3	0,269	0,181	0,535	0,015	
HUND 9	0,181	0,621	0,177	0,020	
HUND 10	0,213	0,542	0,232	0,013	
HUND 21	0,148	0,655	0,189	0,011	
HUND					
MITTELWERT	0,203	0,500	0,283	0,015	
MEDIAN	0,197	0,562	0,211	0,014	
SE	0,026	0,109	0,085	0,002	
R/SD	2,348	2,177	2,112	2,342	
NORMAL-VERTEILUNG +/-	+	+	+	+	

AUSWERTUNGS-STUFE II GRUPPE IV	$V_{VAC,P}$	$V_{VAL,P}$	$V_{VRST,P}$	$V_{VSMC,P}$	
HUND 4	0,202	0,013	0,763	0,014	
HUND 11	0,220	0,030	0,724	0,026	
HUND 12	0,234	0,023	0,719	0,019	
HUND 17	0,221	0,029	0,721	0,023	
HUND 22	0,202	0,038	0,742	0,017	
MITTELWERT	0,215	0,027	0,737	0,020	
MEDIAN	0,219	0,029	0,742	0,019	
SE	0,006	0,004	0,008	0,002	
R/SD	2,367	2,691	2,436	2,519	
NORMAL-VERTEILUNG +/-	+	+	+	+	

AUSWERTUNGS-STUFE II GRUPPE V	$V_{VAC,P}$	$V_{VACM,P}$	$V_{VAL,P}$	$V_{V_RST,P}$	$V_{VSMC,P}$
HUND 5	0,147	0,062	0,081	0,668	0,040
HUND 13	0,144	0,060	0,068	0,700	0,039
HUND 14	0,157	0,030	0,068	0,697	0,047
HUND 18	0,140	0,077	0,147	0,600	0,042
HUND 23	0,180	0,016	0,097	0,678	0,033
MITTELWERT	0,156	0,050	0,092	0,673	0,040
MEDIAN	0,147	0,062	0,086	0,677	0,040
SE	0,013	0,012	0,017	0,018	0,013
R/SD	2,215	2,735	2,787	2,489	2,420
NORMAL-VERTEILUNG +/-	+	+	+	+	+

AUSWERTUNGS-STUFE II GRUPPE I	$V_{VAC,AP}$	$V_{VAL,AP}$	$V_{V_RST,ST}$	$V_{VSMC,ST}$	
HUND 1	0,627	0,373	0,905	0,095	
HUND 6	0,693	0,307	0,931	0,069	
HUND 19	0,716	0,284	0,912	0,088	
HUND					
HUND					
MITTELWERT	0,679	0,321	0,916	0,084	
MEDIAN	0,693	0,307	0,912	0,088	
SE	0,027	0,027	0,008	0,008	
R/SD	1,926	1,926	1,933	1,933	
NORMAL-VERTEILUNG +/-	+	+	+	+	

AUSWERTUNGS-STUFE II GRUPPE II	$V_{VAC,AP}$	$V_{VAL,AP}$	$V_{V_RST,ST}$	$V_{VSMC,ST}$	
HUND 2	0,698	0,302	0,896	0,104	
HUND 7	0,691	0,309	0,922	0,078	
HUND 8	0,669	0,331	0,917	0,083	
HUND 15	0,758	0,242	0,909	0,091	
HUND 20	0,618	0,382	0,881	0,119	
MITTELWERT	0,687	0,313	0,905	0,095	
MEDIAN	0,691	0,309	0,909	0,091	
SE	0,023	0,023	0,007	0,007	
R/SD	2,764	2,764	2,466	2,466	
NORMAL-VERTEILUNG +/-	+	+	+	+	

AUSWERTUNGS-STUFE II GRUPPE III	$V_{ACM,AP}$	$V_{VAL,AP}$	$V_{V_RST,ST}$	$V_{VSMC,ST}$	
HUND 3	0,598	0,402	0,972	0,028	
HUND 9	0,226	0,774	0,963	0,037	
HUND 10	0,282	0,718	0,947	0,053	
HUND 21	0,184	0,816	0,945	0,055	
HUND					
MITTELWERT	0,323	0,677	0,942	0,058	
MEDIAN	0,254	0,746	0,946	0,054	
SE	0,094	0,094	0,014	0,014	
R/SD	2,202	2,202	2,412	2,412	
NORMAL-VERTEILUNG +/-	+	+	+	+	

AUSWERTUNGS-STUFE II GRUPPE IV	$V_{VAC,AP}$	$V_{VAL,AP}$	$V_{V_RST,ST}$	$V_{VSMC,ST}$	
HUND 4	0,939	0,061	0,982	0,018	
HUND 11	0,880	0,120	0,966	0,036	
HUND 12	0,911	0,089	0,974	0,026	
HUND 17	0,884	0,116	0,970	0,030	
HUND 22	0,842	0,158	0,978	0,022	
MITTELWERT	0,891	0,109	0,974	0,026	
MEDIAN	0,884	0,116	0,974	0,026	
SE	0,016	0,016	0,003	0,003	
R/SD	2,671	2,671	2,530	2,577	
NORMAL-VERTEILUNG +/-	+	+	+	+	

AUSWERTUNGS-STUFE II GRUPPE V	$V_{VAC,AP}$	$V_{VACM,AP}$	$V_{VAL,AP}$	$V_{V_RST,ST}$	$V_{VSMC,ST}$
HUND 5	0,507	0,214	0,279	0,994	0,006
HUND 13	0,465	0,349	0,186	0,958	0,042
HUND 14	0,616	0,118	0,266	0,874	0,126
HUND 18	0,385	0,212	0,403	0,925	0,075
HUND 23	0,614	0,055	0,331	0,954	0,046
MITTELWERT	0,517	0,190	0,293	0,932	0,068
MEDIAN	0,507	0,212	0,279	0,954	0,059
SE	0,044	0,050	0,036	0,020	0,015
R/SD	2,326	2,636	2,696	2,722	2,473
NORMAL-VERTEILUNG +/-	+	+	+	+	+

AUSWERTUNGS-STUFE II GRUPPE I	I_{AC}	$S_{VAC,P}$	$S_{VAC,AP}$	$S_{VAC,AC}$	
HUND 1	17,694	226,483	311,960	599,924	
HUND 6	14,056	179,917	260,749	545,500	
HUND 19	14,780	189,184	263,487	585,528	
HUND					
HUND					
MITTELWERT	15,51	198,528	278,732	576,984	
MEDIAN	15,00	192,030	269,431	558,244	
SE	1,111	14,231	16,633	16,281	
R/SD	1,889	2,889	1,778	1,930	
NORMAL-VERTEILUNG +/-	+	+	+	+	

AUSWERTUNGS-STUFE II GRUPPE II	I_{AC}	$S_{VAC,P}$	$S_{VAC,AP}$	$S_{VAC,AC}$	
HUND 2	14,795	189,376	240,020	435,608	
HUND 7	13,485	172,608	224,750	423,258	
HUND 8	15,975	204,480	283,606	587,176	
HUND 15	15,396	197,069	252,006	424,968	
HUND 20	13,548	173,414	206,186	400,746	
MITTELWERT	14,640	197,392	241,514	454,351	
MEDIAN	14,333	181,679	234,321	440,117	
SE	0,495	6,336	12,930	33,688	
R/SD	2,249	2,249	2,643	2,475	
NORMAL-VERTEILUNG +/-	+	+	+	+	

AUSWERTUNGS-STUFE II GRUPPE III	I_{AC}	$S_{VACM,P}$	$S_{VACM,AP}$	$S_{VACM,ACM}$	
HUND 3	6,920	88,576	196,336	731,731	
HUND 9	6,690	85,632	106,773	589,906	
HUND 10	6,664	85,299	112,979	530,418	
HUND 21	5,360	68,608	95,440	577,295	
HUND					
MITTELWERT	6,409	82,035	127,882	565,873	
MEDIAN	6,000	76,797	118,527	584,045	
SE	0,354	4,531	23,105	15,673	
R/SD	2,202	2,202	2,183	6,422	
NORMAL-VERTEILUNG +/-	+	+	+	-	

AUSWERTUNGS-STUFE II GRUPPE IV	J_{AC}	$S_{VAC,P}$	$S_{VAC,AP}$	$S_{VAC,AC}$	
HUND 4	2,434	31,155	145,585	693,262	
HUND 11	3,705	47,424	190,458	869,676	
HUND 12	3,355	42,944	167,037	687,643	
HUND 17	5,291	67,725	270,899	1285,862	
HUND 22	5,777	73,946	308,107	1525,281	
MITTELWERT	4,112	52,634	216,429	1011,944	
MEDIAN	3,400	43,512	178,240	824,078	
SE	0,621	7,949	31,224	167,992	
R/SD	1,744	1,744	2,328	2,230	
NORMAL-VERTEILUNG +/-	+	+	+	+	

AUSWERTUNGS-STUFE II GRUPPE V	I_{AC}	$S_{VAC,P}$	$S_{VAC,AP}$	$S_{VAC,AC}$	
HUND 5	6,677	85,[illegible]66	408,926	1956,585	
HUND 13	7,840	100,[illegible]2	466,753	2667,163	
HUND 14	7,457	95,450	510,426	2729,549	
HUND 18	6,307	80,730	221,785	1022,049	
HUND 23	7,754	99,251	338,741	1728,272	
MITTELWERT	7,207	92,250	389,326	2075,124	
MEDIAN	6,200	79,360	332,044	1715,514	
SE	0,304	3,891	50,830	220,097	
R/SD	2,252	2,252	2,540	3,469	
NORMAL-VERTEILUNG +/-	+	+	+	+	

GRUPPE	TIER NR.	AUSWERTUNGSSTUFE I SCHNITTE	AUSWERTUNGSSTUFE I GESICHTS-FELDER	AUSWERTUNGSSTUFE II SCHNITTE	AUSWERTUNGSSTUFE II GESICHTS-FELDER
	1	13	506	10	250
	6	16	488	10	250
I	19	10	481	12	300
	2	11	612	10	250
	7	14	403	10	250
II	8	11	407	10	250
	15	9	348	9	225
	20	10	467	10	250
	3	10	76	8	200
	9	12	591	8	200
III	10	12	359	10	250
	21	11	438	10	250
	4	4	139	7	152
	11	12	100	10	217
IV	12	10	127	9	200
	17	11	195	10	250
	22	12	154	9	240
	5	8	155	8	195
	13	12	242	10	250
V	14	5	157	9	225
	18	11	239	8	200
	23	10	158	10	250

GRUPPE	TIERE (n)	AUSWERTUNGSSTUFE I		AUSWERTUNGSSTUFE II		MESSPUNKTE	
		SCHNITTE	GESICHTS-FELDER	SCHNITTE	GESICHTS-FELDER	STUFE I	STUFE II
I	3	39	1475	32	800		
II	5	55	2237	49	1225		
III	4	45	1464	36	900	684200	500400
IV	5	49	715	45	1059		
V	5	46	951	44	1020		
SUMMEN	22	234	6842	206	5004	1184600	

LITERATURVERZEICHNIS

1. ALTWEIN, J.E., unter Mitarbeit von HARTMANN, M., HEIDLER, H., JACOBI, G.H., JOOST, J., KLIPPEL, K.-F., KURTH, K.-H., PETRI, E.: Urologie, Enke, Stuttgart 1979, S. 257

2. BARTSCH, G.: Stereology, a New Quantitative Morphological Approach to Study Prostatic Function und Disease, in: Eur. Urol. 3, S. 85, 1977

3. BARTSCH, G., ROHR, H.P.: Die Bedeutung des Stromas bei der Pathomorphogenese der menschlichen Prostatahyperplasie, in: Aktuelle Urologie 10, S. 137, Thieme, Stuttgart 1979

4. BOLENDER, R.P.: Stereological analysis of the guinea pig pancreas, in: J. Cell Biol. 61, S. 269, New York 1974

5. DELESSE, M.A.: Procédé mécanique pour déterminer la composition des roches, in: C.r.Acad. Sci. 25, S. 544, Paris 1947

6. ELIAS, H., HENNING, A., SCHWARTZ, D.E.: Stereology: Applications to biomedical research , in: Physiol. Rev. 51, S. 158, Rockville Pike Bethesda 1971

7. EXNER, H.E.(Hrsg.): Quantitative Analyse von Mikrostrukturen in Medizin, Biologie und Materialentwicklung, Berichte vom Symposium "Quantitative Gefügeanalyse" (Loeben, Österreich 1974), Stuttgart 1975

8. FISCHMEISTER, H.F.: Apparative Hilfsmittel in der Stereologie, in: WEIBEL, R., ELIAS, H. (Hrsg.): Quantitative Methoden in der Morphologie, Springer, Berlin 1967

9. GAHM, J.: Ein "programmierbarer Linearanalysator", in: EXNER, H.E. (Hrsg.): Quantitative Analyse von Mikrostrukturen in Medizin, Biologie und Materialentwicklung, Berichte vom Symposium "Quantitative Gefügeanalyse" (Loeben, Österreich 1974), Stuttgart 1975

10. GIGER, H.: Grundgleichungen der Stereologie I, in: Metrika 16, S. 43, 1971

11. GLAGOLEFF, A.A.: On the geometrical methods of quantitative mineralogic analysis of rocks, in: Trans. Inst. Econ. Mineral, Moscow 59, 1933

12. GLASER, R.: Stereometrie, Sammlung Göschen, Leipzig, 2. Aufl. 1903

13. GUGGENHEIM, R.: Rasterelektronenmikroskopische und morphometrische Untersuchungen an Tilia-Pollen, Sonderdruck aus: Flora Bd. 164, S. 287, VEB Gustav Fischer, Jena 1975

14. GUTJAHR, P.: Das Netzrasterverfahren zur stereologischen Bestimmung des Längen/Flächen-Wertes, Diss. Mainz 1970

15. HALLY, A.D.: A counting method for measuring the volumes of tissue components in microscopical sections, in: Quart. J. micr. Sci. 105, S. 503, Cambridge 1964

16. HAUG, H.: Die Treffermethode, ein Verfahren zur quantitativen Analyse im histologischen Schnitt, in: Z. Anat. Entwickl.-Gesch. 118, S. 302, New York 1955

17. HAUG, H.: Bedeutung und Grenzen der quantitativen Meßmethoden in der Histologie, in: Ergebnisse der Med. Grundlagenforschung 4, S. 302, 1962

18. HENNING, A.: Länge eines dreidimensionalen Linienweges, in: Bericht 1. internat. Kong. Stereolog. Gesellschaft, Beitrag 44. S. 5, Wien 1963

19. HENNING, A.: Kritische Betrachtung zur Volumen- und Oberflächenmessung in der Mikroskopie, in: Zeiss Werkzeitschrift 8, S. 78, 1958

20. HOPPELER, H., LÜTHI, P., CLAASEN, H., WEIBEL, E.R., HOWALD, H.: The Ultrastructure of the Normal Human Skeletal Muscle, in: Pflügers Archiv d. Physiologie 344, S. 217, Springer 1973

21. LOUD, A.V.: A quantitative stereological description of the ultrastructure of normal rat liver parenchymal cells, in: J. Cell Biol. 37, S. 27, 1968

22. NEUMANN, F. , TUNN, U., FUNKE, P.J., SENGE, Th.: Male Accessory Sex Glands: Experimental Basis and Animal Models in Prostatic Tumour Research, in: Animal Models Human Reproduction , Raven Press, New York 1980

23. OBERHOLZER, M., DALQUEN, P., HUBER, M., ROHR, H.P.: Stereology, a complement to respiration research/ Bronchus morphometry: methodology and base line data, in: Microscop. Acta 79, S. 205, Stuttgart 1977

24. OBERHOLZER, M., DALQUEN, P., ROHR, H.P.: Bronchusmorphometrie, in: Schweiz. Med. Wochenschrift 108, S. 288, 1978

25. REIMER, L.: Elektronenmikroskopische Untersuchungs- und Präparationsmethoden, Springer, Berlin 1967, S. 215

26. RICHTER, K.-D.: Einige Aspekte zur Frage der Übertragbarkeit vergleichbarer morphologischer Befunde beim Menschen, in: SENGE, Th., NEUMANN, F., RICHTER, K.-D.(Hrsg.): Physiologie und Pathophysiologie der Prostata, Thieme, Stuttgart 1975, S. 2

27. ROHR, H.P., JURUKOVA, Z.: Beiträge zur Bildung bindegewebiger Matrix in glatten Muskelzellen, in: Path. Europ. 3, S. 571, 1968

28. ROHR, H.P., OBERHOLZER, M., BARTSCH, G., KELLER, M.: Morphometry in experimental pathology (methods, baseline data and applications), in: Int. Rev. Pathol. 54, S. 233, 1976

29. ROHR, H.P.: New methods for the quantitative analysis of histopathology of the prostate at light and electron microscopic level: stereological correlations, in: UICC Workshop on Prostatic Cancer, October 1978

30. ROHR, H.P., OBERHOLZER, M., BARTSCH, G., REITH, A., HOLLINGER,O.: Introduction to Stereology: Principles, General Stereological Model and Calculations, Techniques and Equipment, Institut für Pathologie der Universität Basel, Experimentelle Abteilung, 1978

31. ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik, Oldenbourg, München 1968

32. ROSIVAL, A.: Über geometrische Gesteinsanalysen. Ein einfacher Weg zur ziffernmäßigen Feststellung des Quantitätsverhältnisses der Mineralbestandteile gemengter Gesteine, in : Verh. k.k. geol. Reichsanst., S. 143, 1898

33. SACHS, L.: Angewandte Statistik. Planung und Auswertung. Methoden und Modelle, Springer, Berlin 1974

34. SALTYKOV, S.A.: Stereometric Metallography, in: Metallurgizdat, Moscow 1958

35. SCHARF, J.H.: Die heutige Stellung der Morphologie in Biologie und Medizin, in: Abhandlungen der deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Akademie, Berlin 1970, S. 15

36. SCHERLE, W.: A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology, in: Mikroskopie 26, S. 57, Wien 1970

37. SENGE, Th., NEUMANN, F., TUNN, U.W.: Physiologie und Pathophysiologie des Nebenhodens und der Samenblase, 3.Cansteiner Kolloquium, Thieme, Stuttgart 1980, S. 70

38. SITTE, H.: Morphometrische Untersuchungen von Zellen, in: WEIBEL, E.R., ELIAS, H.(Hrsg.): Quantitative Methoden in der Morphologie, Springer, Berlin 1967, S. 78

39. STUTTE, H. J., HEUSERMANN, U.: Splenomegalie and Red Blood Cell Destruction: A Morphometric Study on the Human Spleen, in: Virchows Archiv B, Bd. 12, S. 1, 1972

40. TOMKEIEFF, S. I.: Linear intercepts, areas and volumes, in: Nature 155, S. 24, 1945

41. TUNN, U., SENGE, Th., SCHENCK, B., NEUMANN, F.: Biochemical and histological Studies on Prostates in castrated Dogs after Treatment with Androstandiol, Oestradiol and Cyproteronacetat, in: Acta endokrinologica 91, S. 373, 1979

42. TUNN, U.W., SCHÜRING, B., SENGE, Th., NEUMANN, F.: Morphometrische Untersuchungen über den Effekt von Cyproteronacetat auf die experimentell induzierte Prostatahyperplasie des

Hundes, in: Verhandlungsbericht der Deutschen Gesellschaft für Urologie, 31. Tagung, Springer, Berlin 1980, S. 451

43. TUNN, U.W., SCHÜRING, E., SENGE, Th., NEUMANN, F., SCHWEIKERT, H.U., ROHR, H.P.: Morphometric analysis of prostates in castrated dogs after treatment with Androstandiol, Estradiol and Cyproteronacetat, in: Investigative Urology Vol.18, No. 4, S. 289, 1980

44. UNDERWOOD, E.E.: Basic Stereology, in: EXNER, H.E. (Hrsg.): Quantitative Analyse von Mikrostrukturen in Medizin, Biologie und Materialentwicklung, Dr. Riederer, Stuttgart 1975, S. 8

45. WALSH, P.C.: Experimental approaches to benign prostatic hypertrophy: Animal models utilizing the dog, rat and mouse, in: GRAYHACK, J.C., WILSON, J.D., SCHERBENSKE, M.J. (Hrsg.): Benign prostatic hyperplasia, DHEW Publication NIH, 1975, S. 215

46. WEIBEL, E. R., GOMEZ, D.M.: A principle for counting tissue structures on random sections, in: J. Appl. Physiol. 17, S. 343, 1962

47. WEIBEL, E. R. , KISTLER, G.S., SCHERLE, W.F.: Practical stereological methods for morhometric cytology, in: J. Cell Biol. 30, S. 23, 1966

48. WEIBEL, E.R., ELIAS, H.: Quantitative Methoden in der Morphologie, Springer, Berlin 1967

49. WEIBEL, E.R.: Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology, in: International Review of Cytology, S. 235, 1969

50. WEIBEL, E.R.: Stereological Techniques for Electron Microscopic Morphometry, in: Principles and Techniques of Electron Microscopy Vol. 3, S. 237, New York 1973

51. WEIBEL, E.R.: Selection of the best methods in stereology, in: Microscopy 100, S. 261, Oxford 1974

52. WEIBEL, E.R., ELIAS, H.: Stereology of cellular reaction patterns, in: Crit. Rev. in Toxicol. 4, S. 219, 1976

53. WILSON, J.D.: Metabolism of testicular androgens, in: Handb. Physiol. 5, 1975, S. 491

54. ZEIGER, K.: Metachromasie, Fixierung und Artefaktbildung, in: V. Symposium für Histochemie der Arbeitsgemeinschaft Histochemie, Anatomisches Institut der Universität Kiel, S. 177, Oktober 1957

Lebenslauf

Geburtsdatum:	11.11.1950
Geburtsort:	Hagen
Gegenwärtiger Wohnsitz:	Voerder Str. 147 a, 5800 Hagen 7
Ehefrau:	Ulrike Schüring (Sonderschullehrerin)
Kinder:	1 Sohn
Vater:	Dr. med. Joseph Schüring (Arzt für Allgemeinmedizin)
Mutter:	Hannelore Schüring (Hausfrau)
Schullaufbahn:	Ostern 1957: Einschulung in die Volksschule Parkschule Hagen Ostern 1961: Wechsel auf das Staatliche Albrecht-Dürer-Gymnasium Hagen Juni 1970: Abitur am Staatlichen Albrecht-Dürer-Gymnasium
Wehrdienst:	April 1975 bis Dezember 1975, danach Freistellung zur Aufnahme des Studiums der Medizin Februar 1982 bis Juli 1982 Ableistung des Rest-Grundwehrdienstes als Stabsarzt
Berufsaufbildung:	Oktober 1970 bis September 1971: Ausbildung zum Krankenpflegehelfer am Allgemeinen Krankenhaus für die Stadt Hagen November bis August 1974: Ausbildung zum Morphologieassistenten am Pathologischen Institut Dr. Bückmann in Hagen
Studium:	September 1974 bis März 1975: Studium der Biologie an der Ruhr-Universität Bochum WS 1975/76: Aufnahme des Studiums der Medizin an der Medizinischen Hochschule Hannover Dezember 1975: Wechsel zur Ruhr-Universität Bochum Oktober 1981: Drittes Ärztliches Staatsexamen an der Ruhr-Universität Bochum November 1982: Promotion
Sonstige Tätigkeiten:	Januar 1981 bis Dezember 1981: Forschungstätigkeit für die DFG an der Abteilung für Urologie des Marienhospitals Herne (Stelle als studentische Hilfskraft)
Gegenwärtige berufliche Tätigkeit:	seit Dezember 1981 Assistenzarzt an der Inneren Abteilung des Evangelischen Krankenhauses Hagen-Haspe (Unterbrechung dieser Tätigkeit vom Februar bis Juli 1982 zur Ableistung des Rest-Grundwehrdienstes)

Hagen, den

Bernd Schüring

(Bernd Schüring)